annales de zoologie écologie animale

inra

AZEA5.1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, 75007 PARIS Tél. : 551-41-09.

Directeur général : J.-M. SOUPAULT

Directeur général adjoint : J. POLY

Inspecteurs généraux : A. CAUDERON, R. FÉVRIER, P. MORNET, R. PÉRO

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. POLY

Annales agronomiques.

— M. HALLAIKE, Chef du Département de Bioclimatologie.
— S. HÉNIN, Chef du Département d'Agronomie.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

— R. MAYER, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes.

Annales de Phytopathologie.

— H. DARPOUX, Chef du Département de Pathologie végétale.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

— E. BILIOTTI, Chef du Département de Zoologie.

Annales de Zootechnie.

— A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
— A. RÉRAT, Directeur de la Station de Recherches sur l'Élevage des Porcs, C. N. R. Z.

Annales de Technologie agricole.

— P. DUPUY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux.
— A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés, C. E. R. D. I. A., Le Noyer Lambert, 91300 Massy.
— G. MOCQUOT, Chef du Département de Technologie des Produits animaux.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

— G. FAUCONNEAU, Chef des Départements de Nutrition et d'Élevage.
— A. FRANÇOIS, Directeur de Recherche à l'I. N. R. A.
— C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.

Annales des Sciences forestières.

— P. BOUVAREL, Chef du Département de Recherches forestières, C. N. R. F.
— J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54000 Nancy.
— J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

— P. MÉRAT, Directeur de la Station de Génétique formelle, C. N. R. Z.
— B. VISSAC, Directeur de Recherche, Département de Génétique animale, C. N. R. Z.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I. N. R. A.-Deutscher-Imkerbund).

— J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91440 Bures sur Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

— P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Annales d'Hydrobiologie.

— R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
— C. THIBAULT, Chef du Département de Physiologie animale.
— R. VIBERT, Directeur de la Station d'Hydrobiologie, 64200 Biarritz.

Annales d'Économie et de Sociologie rurales.

— D. BERGMANN, Chef du Département d'Économie et de Sociologie rurales.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :

Services des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78000 VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

annales de zoologie écologie animale

Trimestriel

1973

Vol. 5 . N° 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 1-11.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA PHYSIOLOGIE DU JEÛNE CHEZ UN INSECTE

II. — Effets du jeûne larvaire sur les chrysalides et sur les œufs de la génération suivante

Lucienne BAUD (1)

Laboratoire de Biométrie,
Section de Biologie générale et appliquée,
Université Claude Bernard, Lyon I,
69100 Villeurbanne

RÉSUMÉ

La sous-alimentation quantitative imposée aux larves de *Bombyx mori* L., au dernier âge a non seulement des conséquences sur les caractéristiques pondérales des stades ultérieurs, mais également sur l'équilibre des grandes catégories chimiques qui les constituent. C'est ainsi que les quantités de glucides et de lipides des nymphes sont affectées par l'inanition larvaire. De même, la teneur en glycogène est fonction du nombre de repas ingérés par les chenilles au V^e^ intermue. Par contre, les pourcentages d'acides nucléiques des œufs témoins et des œufs traités restent comparables.

INTRODUCTION

Les répercussions des conditions alimentaires et particulièrement du jeûne sur le déroulement des phénomènes de reproduction ont depuis longtemps été mises en évidence chez les Insectes. Il faut bien distinguer deux cas :

— une action sur les larves qui atteint la descendance à travers l'imago sans que celui-ci ait lui-même subi directement cette inanition ; ce sera forcément le cas des adultes ne s'alimentant pas ;

— l'action toute différente, et beaucoup plus directe, d'un régime alimentaire imposé à l'imago lui-même sur sa reproduction. C'est ainsi que l'on connaît bien chez l'imago de certains insectes l'importance du jeûne comme facteur limitant la fertilité : c'est le cas des insectes hématophages, par exemple, où la fertilité du mâle lui-même peut être affectée (Buxton, 1930 ; Cragg, 1923), mais où celle de la femelle est tou-

(1) Adresse actuelle : Station de Recherches Cytopathologiques, I. N. R. A., 30380 Saint-Christol-les-Alès.

jours fortement soumise aux conditions nutritionnelles (HADDOW, 1947 ; WOKE, 1937). On retrouve le même phénomène chez certains lépidoptères s'alimentant au stade imaginal ; la privation d'eau pour quelques-uns, ou d'eau glucosée pour beaucoup d'autres, interdit toute reproduction. Chez les Coléoptères, on a montré que la fécondité pouvait être liée à un niveau déterminé d'alimentation, mais plus généralement ce facteur se trouve sous la dépendance de la composition qualitative de l'aliment (GRISON, 1948-1957 ; GRISON et LE BERRE, 1953 ; TURNIPSEED et ROBB, 1967). La castration des ouvrières chez les Hyménoptères peut s'expliquer par l'inanition partielle résultant de leur fonction sociale.

Le premier schéma envisagé, l'étude des effets de l'alimentation larvaire sur la reproduction, a été beaucoup moins étudié. Le jeûne larvaire a cependant été utilisé pour obtenir des modifications des caractéristiques quantitatives des pontes de *Bombyx mori* L. (LEGAY et BAUD, 1953). Les mesures prises en considération étaient les suivantes : poids total et nombre d'œufs normaux pondus, poids moyen d'un œuf ; tous ces caractères sont fortement influencés, mais il semble que, lorsque le degré de jeûne imposé permet la nymphose, il permet également le déroulement des processus de reproduction. L'étude fragmentaire précédente a été reprise et complétée en précisant l'influence du jeûne larvaire au V^e^ intermue sur les nymphes, imagos, œufs et les caractéristiques de la génération-fille (BAUD, 1955). Les larves subissent à partir du minimum d'alimentation obligatoire un jeûne total jusqu'à la nymphose : un pourcentage important de larves ne donnent pas de nymphes surtout chez les femelles dont on constate ici encore la fragilité liée sans doute à la constitution hétérogamétique ; la mortalité à la mue imaginale n'est pas augmentée par rapport au témoin.

Le poids des nymphes provenant de larves inanitiées peut n'être que le tiers de celui des larves témoins ; le poids des papillons se trouve diminué dans la même proportion que celui des chrysalides. Les pontes sont très modifiées par le jeûne des larves ; celles qui proviennent de parents inanitiés sont dix fois plus légères que les pontes témoins et contiennent huit fois moins d'œufs normaux ; le nombre d'œufs stériles ou morts au cours de la diapause est important ; par contre, le poids moyen d'un œuf varie beaucoup moins : 0,572 mg contre 0,735 mg ; ce caractère qui appartient déjà à la génération suivante est sous la dépendance d'un mécanisme de régulation qui se manifestera de plus en plus au cours des différents stades de la génération suivante. Cependant, le poids moyen d'un œuf de la F_1 reste faible ; ce caractère qui avait été modifié par la sous-alimentation des parents a conservé en partie l'empreinte de celui-ci au-delà d'une génération alimentée normalement ; ces effets que l'on peut classer dans les *modifications durables* sont cumulatifs ; l'action du jeûne larvaire pratiqué au minimum d'alimentation obligatoire, sur plusieurs générations successives, aboutit à l'extinction de la souche.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Lors des expériences de jeûne absolu au V^e^ intermue larvaire, nous avons donc conservé un certain nombre d'échantillons de nymphes provenant de lots de larves ayant reçu 12, 16, 20, 24 et 28 repas ; nous les pesons et les analysons dix jours après le filage ; ce délai de dix jours est un peu arbitraire, mais il a été adopté dans les travaux antérieurs (BAUD, 1955) ; plus tôt les chrysa-

lides seraient trop fragiles pour être manipulées ; de plus, à ce moment-là, leur poids se trouve plus stable qu'au cours des premiers jours de la vie nymphale.

Quant aux œufs, nous savons qu'ils évoluent tout au long de leur diapause, et plus encore au cours de l'incubation ; aussi préciserons-nous toujours le moment des prélèvements effectués ; pratiquement, l'époque choisie se situe en début d'hibernation, c'est-à-dire en septembre.

Nous avons analysé les constituants suivants :

— eau,
— sucres en C_6, en particulier le fructose,
— pentoses,
— glycogène,
— lipides totaux,
— protéines,
— acides nucléiques.

Dans une première partie, nous allons donner les techniques biochimiques utilisées ; nous ne rappellerons pas celles qui ont déjà été décrites dans une note sur le jeûne des larves (BAUD, sous presse) ; nous nous limiterons à l'exposé des méthodes non mentionnées dans cet article.

A. — *Glucides*

1. *Oses.*

a) *Sucres en C_6 solubles dans l'acide perchlorique.*

Le matériel pesé en frais est introduit dans le potter avec 3 à 3,5 cm³ d'eau bipermutée ; après chauffage au bain-marie bouillant, nous introduisons 3 cm³ d'acide perchlorique et nous broyons le matériel ; 10 cm³ d'eau bipermutée sont ajoutés avant la centrifugation à 6 000 tours (2 à 3 minutes). Le surnageant est filtré sur laine de verre et le culot est repris avec 1 cm³ d'acide perchlorique ; après 15 minutes d'incubation, nous ajoutons 5 cm³ d'eau. Une deuxième centrifugation est effectuée et, après filtration, la liqueur est ajustée à 25 cm³ dans une fiole jaugée.

b) *Fructose.*

Nous utilisons la méthode de ROE (1949), basée sur l'hydrolyse progressive des esters du fructose en milieu fortement acide. Le fructose est dosé dans l'extrait perchlorique, extrait dans lequel nous analysons les sucres totaux en C_6.

c) *Pentoses.*

Les pentoses sont dosés par la méthode de MEJBAUM (1939).

2. *Osides* : glycogène (BAUD, sous presse).

B. — *Lipides*

Nous utilisons la méthode colorimétrique de CHABROL.

C. — *Acides nucléiques*

1. *Extraction.*

Les acides nucléiques sont extraits suivant la technique de OGUR et ROSEN (1950). Elle a été choisie de préférence à celles de SCHMIDT et THANNHAUSER (1945), et de SCHNEIDER (1954), en raison d'une étude préalable effectuée par BAUDET (1). A l'inverse des méthodes précédentes qui n'ont pas donné de bons résultats, la méthode de OGUR et ROSEN permet d'obtenir une assez bonne correspondance entre les résultats obtenus par le dosage des sucres et l'absorption en ultraviolet.

(1) Station centrale de Physiologie végétale, Versailles, I. N. R. A.

2. *Dosage des sucres.*

Le ribose est dosé par la méthode colorimétrique de MEJBAUM (1939), et le désoxyribose par celle de DISHE (1953).

3. *Phosphore nucléique des œufs.*

Les œufs sont minéralisés en présence d'acide sulfurique et d'une quantité minime d'acide perchlorique par chauffage électrique à 200-300°C, jusqu'à l'apparition d'une teinte verte. Le dosage du phosphore ribonucléique est effectué selon la technique de FISKE et SUBBAROW (1925).

4. *Précision des mesures.*

Les pesées ont été effectuées au 1/10 mg ; la précision des dosages, variable selon les constituants analysés et les méthodes adoptées, est de l'ordre de celle que nous indiquons ci-dessous (p. 100) :

Sucres en C_6	*Glycogène*	*Lipides*	*Azote total*	*Azote protéique*
—	—	—	—	—
3	2,5	1	2	2,5

II. — RÉSULTATS

A. — *Eau*

1. *Chrysalides.*

La teneur en eau des nymphes diminue de 82 p. 100 à 75 p. 100 du lot I (larves ayant reçu 12 repas au V^e^ intermue), au lot V (larves ayant reçu 28 repas au dernier intermue).

Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

TABLEAU I

Teneurs en eau des chrysalides

Nombre de repas	Eau % du poids frais		Eau en mg pour une nymphe	
	♂	♀	♂	♀
12	81,14	83,08	537,55	668,79
16	79,15	79,22	716,31	871,42
20	77,45	76,90	890,68	1 125,12
24	76,92	75,84	1 092,26	1 516,80
28	75,43	75,23	1 404,11	1 946,58

2. *Œufs.*

La teneur en poids sec des œufs provenant d'individus sous-alimentés (33 p. 100) est inférieure à celle des œufs témoins (37 p. 100). Toutefois ces analyses effectuées en cours de diapause laissent subsister une inconnue : ces différences tiennent-elles à une évolution embryonnaire modifiée par l'alimentation des parents ou à une modification au niveau de l'ovogenèse?

B. — *Sucres*

1. *Chrysalides.*

La sous-alimentation quantitative des larves entraîne une diminution de la teneur en sucres des nymphes (tabl. 2).

TABLEAU 2

Sucres en C_6 des chrysalides

Nombre de repas	Sucres en % du poids frais		Sucres pour une chrysalide (mg)	
	♂	♀	♂	♀
12	0,82	0,81	6,83	7,63
28	2,15	2,43	32,98	60,58

2. *Œufs.*

a) *Sucres totaux en C_6 solubles dans l'acide perchlorique* (tabl. 3).

Nous donnons les teneurs en sucres des œufs pendant la diapause ; ces œufs proviennent de papillons qui au stade larvaire avaient ingéré soit 12, soit 18, soit 28 repas.

TABLEAU 3

Glucides en p. 100 du poids frais des œufs

Nombre de repas	Sucres en C_6	Fructose	Pentoses
12	0,75	0,57	0,13
18	0,81	0,54	0,16
28	0,94	0,56	0,24

La teneur des œufs sous-alimentés est inférieure à celle des œufs témoins.

b) *Fructose* (tabl. 3).

Le traitement subi par les larves ne semble pas avoir d'influence sur les œufs.

c) *Pentoses* (tabl. 3).

Les œufs provenant de lots inanitiés sont moins riches en pentoses que les œufs témoins.

C. — *Glycogène*

1. *Chrysalides.*

Les teneurs des nymphes en glycogène sont consignés dans le tableau 4.

TABLEAU 4

Glycogène des chrysalides

Nombre de repas	Glycogène en % du poids frais		Glycogène pour une nymphe (mg)	
	♂	♀	♂	♀
12	0,07	0,07	0,45	0,66
16	0,41	0,21	3,37	2,49
20	0,43	0,69	7,37	9,00
24	0,84	0,84	10,84	13,17
28	1,64	1,30	31,00	30,16

La teneur en p. 100 du poids frais augmente à mesure que les larves reçoivent davantage d'alimentation.

2. *Œufs.*

La teneur en glycogène exprimée en p. 100 du poids frais des œufs est fonction du nombre de repas ingérés par les parents au stade larvaire (cf. tabl. 5).

TABLEAU 5

Glycogène des œufs

Nombre de repas	Glycogène % du poids frais	Glycogène pour 100 œufs (mg)
12	0,22	0,14
18	0,27	0,19
28	0,35	0,36

D. — *Lipides*

1. *Chrysalides.*

Les teneurs en fonction du poids frais augmentent avec le nombre de repas, aussi bien chez les mâles que chez les femelles (tabl. 6).

TABLEAU 6

Lipides des chrysalides

Nombre de repas	Lipides % du poids frais		Lipides pour une chrysalide (mg)	
	♂	♀	♂	♀
12	0,64	0,36	4,88	2,66
16	1,27	0,73	11,46	8,34
20	1,54	1,46	16,94	19,31
24	2,34	1,61	33,23	25,32
28	3,09	2,00	58,08	48,10

Quant à la quantité de lipides exprimée en milligramme par chrysalide, les nymphes mâles du lot témoin (28 repas), en contiennent 11 fois plus que les mâles inanitiés au maximum (12 repas), et les nymphes femelles témoins en renferment environ 24 fois plus que les femelles du « lot 12 repas ». Nous constatons donc que l'écart entre les teneurs des chrysalides mâles et femelles tend à augmenter en fonction du jeûne des larves au désavantage des femelles.

2. *Œufs : lipides totaux.*

La teneur en lipides des œufs des différents lots est exprimée dans le tableau 7 ; cette teneur est relativement stable mais semble toutefois plus élevée chez les œufs témoins que chez les œufs sous-alimentés.

TABLEAU 7

Lipides des œufs

Nombre de repas	12	16	20	24	28
Lipides % du poids frais	2,06	2,03	2,23	2,13	2,71

E. — *Protides*

1. *Chrysalides.*

L'azote analysé dix jours après le filage diminue en p. 100 en fonction de l'augmentation du nombre de repas ingérés avant la période d'inanition ; par contre, la quantité d'azote contenue dans une nymphe est en accroissement avec la progression du nombre de repas (tabl. 8).

TABLEAU 8

Azote total des chrysalides

Nombre de repas	Azote total % poids frais		Azote total pour une nymphe (mg)	
	♂	♀	♂	♀
12	2,88	2,65	20,02	17,97
16	2,44	2,49	21,59	25,65
20	1,94	2,48	29,41	32,36
24	2,07	2,35	31,32	43,71
28	1,84	2,33	33,99	58,48

2. *Œufs.*

a) *Azote total, azote protéique et protéines.*

Nous avons analysé l'azote total, l'azote protéique et les protéines dans les œufs issus des divers lots. Ainsi que le montrent les valeurs obtenues dans le tableau 9 nous ne notons pas de différences significatives entre les lots :

TABLEAU 9

Protides des œufs

Nombre de repas	Azote total % poids frais	Azote protéique % poids frais	Protéines % poids frais
12	3,97	3,22	2,00
28	3,94	3,17	1,90

La stabilité des teneurs en azote aussi bien qu'en protéines chez les larves et les nymphes se retrouve ici sous la forme d'une indépendance totale de l'œuf vis-à-vis des conditions alimentaires subies par les parents, ce que laissait supposer la régulation pondérale que nous avons enregistrée antérieurement (1955).

b) *Acides nucléiques des œufs.*

En ce qui concerne la teneur en acides nucléiques, les œufs contiennent quatre fois plus d'ARN que d'ADN (cf. tabl. 10).

Par ailleurs, nous ne constatons pas de différence sensible entre les teneurs en ARN et en ADN des œufs issus de parents sous-alimentés et des témoins.

TABLEAU 10

Acides nucléiques
(p. 100 du poids frais)

Nombre de repas	ARN	ADN
12	0,27	0,06
28	0,24	0,06

c) *Phosphore nucléique des œufs.*

La teneur en phosphore nucléique des œufs est indépendante du régime alimentaire des larves. La quantité de phosphore ribonucléique est dix fois plus importante que celle du phosphore désoxyribonucléique (cf. tabl. 11).

TABLEAU 11

Phosphore des œufs
(p. 100 du poids frais)

	ARN		ADN	
	12 repas	28 repas	12 repas	28 repas
Fin d'hibernation	0,03	0,03	0,004	0,003
Fin d'incubation	0,05	0,06	0,008	0,006

D'autre part, comme l'a signalé CHINO (1956), une évolution de la teneur en acides nucléiques se manifeste au cours de l'incubation : les teneurs en phosphore ribonucléique et en phosphore désoxyribonucléique doublent de la fin de l'hibernation à la fin de l'incubation.

CONCLUSION

Chez un insecte ne s'alimentant pas au stade imaginal, tel que *Bombyx mori* L. les conséquences, d'une sous-alimentation quantitative imposée aux larves, ayant pour effets immédiats l'épuisement d'une partie des réserves formées au moment de l'arrêt de l'alimentation, se font sentir non seulement sur les caractéristiques pondérales des stades ultérieurs et des œufs, mais se répercutent également sur les grandes catégories chimiques qui les constituent.

C'est ainsi que la quantité de réserves des nymphes (glucides et lipides), est grandement affectée par la sous-alimentation quantitative larvaire au V^e intermue. De même, la teneur en glycogène des œufs est fonction du nombre de repas ingérés par les chenilles au dernier âge ; quant aux protides, le taux d'azote des nymphes diminue au fur et à mesure de l'intensité de l'inanition.

Au niveau des œufs, l'analyse du phosphore nucléique n'a pas montré les différences antérieurement notées entre la teneur en phosphore total des œufs normaux et celle des œufs issus de parents sous-alimentés (BAUD et PASCAL, 1960) ; ce qui semble normal puisque nous avons observé des teneurs en acides nucléiques comparables chez les œufs témoins et chez les œufs traités. On peut, toutefois, confirmer l'évolution générale de la teneur en phosphore nucléique qui se produit en cours de diapause et d'incubation dans tous les œufs. De même, les teneurs en acides nucléiques des œufs restent sensiblement comparables, celles des ARN restant constamment quatre fois plus élevées que celles des ADN.

L'ensemble des modifications expérimentales enregistrées dans le passage d'une génération à la suivante, dont l'étude a été poursuivie par LEGAY (1961), trouvent dans nos résultats une base biochimique qu'il conviendrait sans doute d'analyser plus finement afin de déterminer la nature des mécanismes spécifiquement responsables des phénomènes observés dans les descendants de parents sous-alimentés.

Il convient ici de souligner l'extraordinaire capacité d'adaptation de cet insecte au moment de la reproduction ; non seulement les adultes nains (à 12 repas) pèsent trois fois moins que les adultes normaux mais les nymphes naines peuvent assurer le *programme* de reproduction avec les 2/3 de l'azote normal pour les mâles et le 1/3 pour les femelles, ce qui signifie à la fois un mécanisme de régulation et une souplesse remarquables.

Reçu pour publication en avril 1972.

SUMMARY

A CONTRIBUTION TO THE PHYSIOLOGICAL STUDY OF STARVATION IN AN INSECT. EFFECTS OF LARVAL STARVATION ON THE NYMPHS AND EGGS OF THE FOLLOWING GENERATION

The forced quantitative undernourishment on the last instar larvae of *Bombyx mori* L., has not only consequence of the ponderal nature compared to earlier stage but also on the equilibrium of the major chemical constituents. Thus the quantities of glucids and lipids are affected by the larval starvation. Also the glycogen contents of the eggs is determined by the food ingested by the caterpillar in the 5th instar. On the contrary, the nucleic acid percentage of treated and non treated eggs remain similar.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAUD L., 1955. Influence d'une sous-alimentation quantitative au cours du dernier intermue larvaire de *Bombyx mori* L., sur son développement ultérieur et sur celui de la génération suivante. *Rev. du Ver à soie*, **2**, 3-4, 7, 75-159.

BAUD L. (sous presse). *Contribution à l'étude physiologique du jeûne chez un insecte*, I Larve de *Bombyx mori* L.

BAUD L., PASCAL M., 1960. Variation du phosphore total de l'œuf de *Bombyx mori* L., en fonction de l'alimentation des parents. *C. R. Soc. Biol.*, **154**, 1, 180.

BUXTON P. A., 1930. Evaporation from the mealworm and atmospheric humidity. *Proc. roy. Soc. London, B*, 106, 560.

CHINO A. H., 1956. The changes in phosphorus compounds during embryonic development of the silkworm, *Bombyx mori* L. *Embryologia*, **3**, 2, 167-186.

CRAGG F. W., 1923. *Ind. J. Med. Res.*, **2**, 449-473 ; cité par CHAUVIN dans *Physiologie de l'insecte*, 1949.

DISCHE Z., 1953. Qualitative and quantitative colorimetric determination of heptoses. *J. Biol. Chem.*, **204**, 983.

FISKE C. H., SUBBAROW Y., 1925. A colorimetric determination. *J. Biol.*, **66**, 375.

GRISON P., 1948. Variations de la teneur en lipides choliniques du doryphore au cours de la vie imaginale et en fonction de son alimentation. *C. R. Acad. Sci.*, **227**, 1172-1172.

GRISON P., 1957. Les facteurs alimentaires de la fécondité chez le doryphore (*Leptinotarsa decemlineata*, SAY ; Col. *Chrysomelidae*). *Ann. Épiphyties.*, **8**, 3, 305-381.

GRISON P., LE BERRE J.-R., 1953. Conséquences physiologiques de l'inanition chez l'imago de *Leptinotarsa decemlineata*, SAY. *Rev. Pathol. vég. entomol. agr. Fr.*, **32**, 2, 73-86.

HADDOW A., 1941. The influence of nutrition on egg production and longevity in unmated females body lice *Pediculus humanis corporis* (Anoplura). *Parasitol.*, **33**, 40-46.

LEGAY J. M., 1961. Sur l'existence d'effets prolongés dus à la sous-alimentation chez *Bombyx mori* L. *Bull. Biol. France Belgique*, 45, 4.

LEGAY J. M., BAUD L., 1953. L'influence de l'alimentation de la larve sur les caractéristiques quantitatives des pontes de *Bombyx mori* L. *Rev. Ver à soie*, **5**, 1, 67-72.

MEJBAUM W., 1939. Über die Bestimmung kleiner Pentosemengen, insbesondere in Derivation der Adenylsäure. *Z. Physiol. Chem.*, **258**, 117.

OGUR M., ROSEN Q., 1950. *Arch. Bioch.*, **25**, 262. Cités dans *Techniques de Laboratoire*, LOISELEUR, 1954.

ROE J. H., 1949. A colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine. *J. Biol. Chem.*, 107.

SCHMIDT G., THANNHAUSER S. J., 1945. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoprotein in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **161**, 83-89.

SCHNEIDER W. C., 1945. *J. Biol. Chem.*, 161, 293. Cité dans *Techniques de Laboratoire*, LOISELEUR, 1954.

TURNIPSEED M. R., ROBB J. S., 1963. Some factors influencing oviposition by the Tobacco wiereworm, *Conoderus vespertinus* (*Coleoptera : Elateridae*). *Ann. Ent. Soc. Americana*, **56**, 751-655.

WOKE P. A., 1937. *J. Parasitol.*, **23**, 311-313. Cité par CHAUVIN dans *Physiologie de l'Insecte*, 1949.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 13-28.

OBSERVATIONS ÉCOLOGIQUES SUR L'HIVERNATION DU PUCERON DU POIS, *ACYRTHOSIPHON PISUM* (HARRIS) ET DE SES PARASITES DANS LA RÉGION DE VERSAILLES

R. BOURNOVILLE (1)
avec la collaboration technique de S. WARIN

Station centrale de Zoologie,
Centre national de Recherches agronomiques, I. N. R. A.,
78000 Versailles

RÉSUMÉ

Dans les luzernières de la région de Versailles, l'hivernation d'*A. pisum* s'effectue surtout sous forme d'œufs, bien que le maintien d'individus anholocycliques soit possible. Le pourcentage de disparition des œufs en hiver est élevé. Dès le mois de février, les fondatrices éclosent ; leur survie est assurée par la végétation du niveau du collet de la plante. Le parasitisme primaire par *Aphidius* HAL. peut être efficace, en raison de la bonne coïncidence d'apparition de cet *Aphidiidae* avec les fondatrices, les hyperparasites *Charipinae* étant plus tardifs. Des données sont fournies sur le biotype et le polymorphisme de couleur du puceron du pois. En raison de la localisation des œufs au niveau du collet des plantes, on ne peut guère agir sur la contamination du champ qu'en gênant, par le choix de la date de la dernière coupe, l'essor des population des sexupares et de sexués avant le dépôt des œufs.

INTRODUCTION

Le puceron du pois, *Acyrthosiphon pisum* HARRIS, est un insecte vivant aux dépens des Papilionacées. A la suite de relevés préliminaires, opérés en 1967 et 1968 (2) dans la région de Versailles, nous avons remarqué que cette espèce monœcique présente, dans la couche végétale de la luzerne, les caractéristiques de constance, puisque nous l'avons rencontrée dans chacun de nos prélèvements, et d'abondance, en raison de l'effectif de sa population, notamment au début de l'été et en automne. La dominance de cet aphide est rapportée dans diverses études biocénotiques du champ de luzerne,

(1) Adresse actuelle : Laboratoire d'Éthologie et d'Écologie des Insectes, S. A. P. F., 86 - Lusignan.
(2) Les observations ont été interrompues en 1969 en raison d'un séjour à l'étranger.

en particulier, en Europe, par BALOGH et LOKSA (1956) et par OBRTEL (1969). Il nous est apparu que la plante-hôte, par sa pérennité, ajoute un facteur favorable au maintien de la population d'*A. pisum*, durant la mauvaise saison. L'étude suivante concerne l'hivernation du puceron et celle de ses parasites, deux des facteurs réglant la dynamique de la population aphidienne, lors du renouveau de la végétation.

TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

1. — *Lieux et méthodes de prélèvements*

Nous avons effectué nos observations dans des luzernières destinées à la production fourragère de la région versaillaise. Ces champs, de la première à la troisième année d'exploitation, ne subissent aucun traitement insecticide. Les pucerons ont été capturés au filet-fauchoir. Ce procédé, bien qu'insuffisant pour l'étude biocœnotique de la luzernière, reste d'un emploi rapide et aisé lorsqu'on doit suivre l'évolution d'une population (SAUGSTAD, BRAM et NYQUIST, 1967). Nous avons donné 5 séries, séparées l'une de l'autre par 5 pas, de 5 coups de filet, dans des zones homogènes des champs, en évitant les effets de bordure. En automne, nous avons effectué ces prélèvements environ tous les 10 jours ; leur fréquence a été cependant soumise aux conditions climatiques, puisque l'emploi du filet-fauchoir est impossible dans la végétation mouillée.

Pour recueillir les œufs d'hiver de pucerons, nous avons examiné au laboratoire l'ensemble de la végétation, sectionnée à l'aide de ciseaux, au niveau du sol, de carrés de 0,5 mètre de côté, délimités dans des parcelles expérimentales d'observation. Cette coupe doit être faite très soigneusement, de sorte qu'après le prélèvement, il ne subsiste plus de végétation épigée sur les 0,25 m^2.

2. — *Méthodes d'élevages*

Cas général. Les élevages d'*A. pisum* ont été effectués sur des rameaux coupés, en changeant la plante tous les 2 à 3 jours. Les pucerons ont été généralement mis par lots de 5 dans des boîtes parallélépipédiques de 6 × 6 × 10 cm, à fond ouvrant. La tige coupée trempe dans l'eau contenue dans un tube. Ce système a été mis au point et est utilisé par BONNEMAISON dans ses études sur les aphides. Pour assurer l'étanchéité de la cagette d'élevage au niveau du passage de la tige, nous avons employé une pièce cyclindrique de bourrelet en mousse plastique. Ce matériau, comprimable, enserre le végétal et n'empêche pas la remontée des pucerons lors de chutes, alors que les fibres de coton, utilisées fréquemment pour assurer l'étanchéité, immobilisent souvent les jeunes larves. Or, la lignée du puceron du pois que nous avons recueillie sur la luzerne, se détache très facilement de sa plante-hôte. Pour faciliter les manipulations, nous avons groupé par 6 ces unités d'élevage dans des boîtes au couvercle percé (fig. 1).

Cas particulier de l'élevage des fondatrices. En raison de la fragilité de ces dernières, nous avons cherché à éviter leur manipulation durant leur vie larvaire. Aussi, dès leur éclosion, nous les avons placées, jusqu'au quatrième stade, sur des pieds de luzerne en pots. Leur résistance est alors suffisante pour reprendre les manipulations sur brins coupés. Nous avons coiffé les plantes en pots de cages mesurant 15 × 15 × 40 cm. Elles possèdent un cadre de bois et des parois latérales de mousseline ; l'une de ces parois s'ouvre entièrement par l'emploi de ruban adhésif. Le fond de ces cages s'emboîte sur un cylindre en matière plastique qui assure l'étanchéité au niveau du collet de la plante. Nous définirons les autres conditions d'élevage dans le cadre des études particulières.

DÉFINITION DE LA POPULATION D'*A. PISUM*

1. — *Le biotype*

L'étude de l'hivernation du puceron nécessite la connaissance des plantes-hôtes de l'insecte. Une bibliographie, abondante et variée, nous indique qu'*A. pisum* existe sous forme de clones plus ou moins étroitement inféodés à une gamme d'hôtes : les

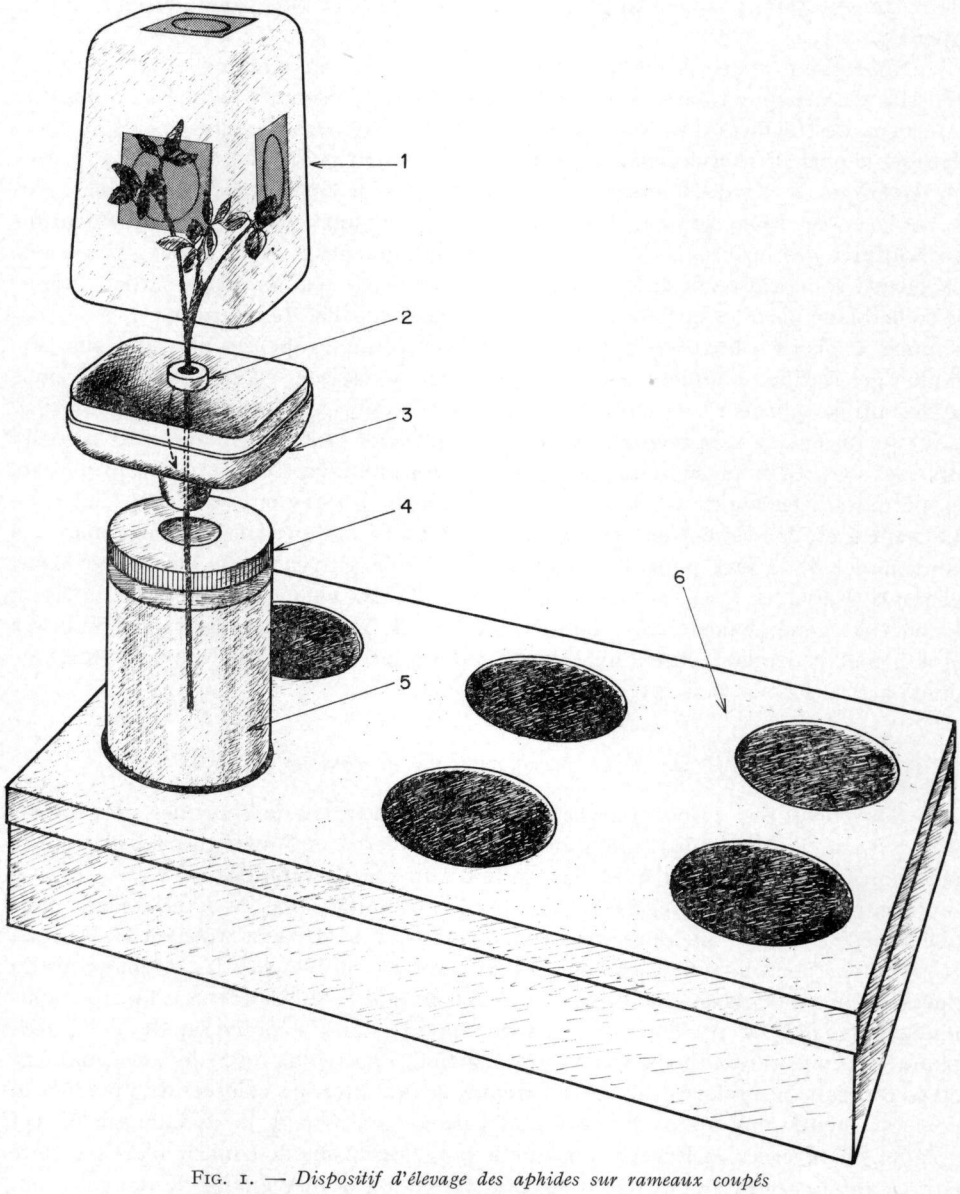


FIG. 1. — *Dispositif d'élevage des aphides sur rameaux coupés*

1) Boîte d'élevage aux faces grillagées.
2) Pièce de « joint de porte ».
3) Fond ouvrant de la boîte d'élevage.
4) Couvercle percé du tube n° 5, recevant la cagette d'élevage.
5) Tube contenant de l'eau.
6) Boîte permettant de grouper 6 éléments d'élevage.

biotypes (voir à ce sujet, CARTIER, 1964 ; HILLE RIS LAMBERS, 1947 ; MÜLLER, 1962). Dans des mises au point récentes, MÜLLER (1970, 1971) a montré la portée génétique de cette sélection, par voie trophique, chez *A. pisum*, et plus généralement chez les aphides.

Nous avons choisi de tester, sur diverses plantes, par référence à la luzerne, la réussite de la population recueillie dans nos relevés. Ce sont la fève (*Vicia faba* L.), en raison des facilités d'utilisation de cette plante pour les élevages opérés au laboratoire, le pois (*Pisum sativum* L.), utilisé couramment pour les études sur *A. pisum*, en Amérique du Nord. Nous avons également utilisé le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) et la Vesce (*Vicia sativa* L.), ces deux plantes pouvant se trouver à l'état spontané en bordures des luzernières, et parfois à l'état d'adventice. Nous avons obtenu une excellente colonisation de la fève par rapport à l'élevage témoin réalisé sur la luzerne ; le trèfle blanc porte des colonies un peu inférieures à celles de la luzerne. Les descendants d'*A. pisum* sont très peu nombreux sur vesce, tandis que, sur pois, la réalisation d'une génération complète est pratiquement impossible, et ceci bien que nous ayons utilisé plusieurs variétés de cette plante (Cobri, Aldot, Clamart-3-gousses). Ces conclusions se rapprochent de celles de MÜLLER (1962). Cet auteur a recueilli diverses souches du puceron du pois sur plusieurs légumineuses et a étudié leur réussite en permutant les plantes. Les souches provenant de luzerne ont bien réussi sur fève. Le trèfle a été facilement accepté, mais le pois ne l'a été que très médiocrement. La convenance de la fève pour des souches d'*A. pisum* provenant de luzerne est assez générale (FRÖLICH, 1963 ; MEIER, 1964 ; BOURNOVILLE, 1971). En Amérique du Nord, le pois est généralement très bien accepté par *A. pisum* ; les résultats d'AUCLAIR (1966) font cependant état d'un biotype trouvé sur luzerne, au Nouveau-Mexique, dont la réussite sur pois est mauvaise.

2. — *Le polymorphisme de couleur*

Nos relevés (fig. 2) montrent la présence, dans la région de Versailles, de 2 formes d'*A. pisum* : l'une, la plus commune, de couleur verte, et l'autre de couleur rose. Ce polymorphisme de couleur n'est pas un fait rare chez les aphides ; il a été passé en revue par HILLE RIS LAMBERS (1966). Chez le puceron du pois, le déterminisme de ce phénomène a soulevé quelques discussions. Tout comme MÜLLER (1962) et MARKKULA (1963), nous pensons que la couleur est un caractère stable chez les virginopares du puceron du pois dans des conditions d'élevage favorables à l'espèce. Sur luzerne, nous n'avons pas noté le 3^{e} coloris d'*A. pisum* rapporté dans la bibliographie (coloration jaune sur *Lotus uliginosus* SCHK.). La proportion d'individus roses dépasse rarement 20 p. 100 dans nos relevés (fig. 2). La fréquence des 2 formes colorées du puceron du pois est mentionnée dans diverses publications concernant la dynamique de cet aphide, sur luzerne, en Europe, puisque le polymorphisme de couleur n'est pas noté par les auteurs nord-américains (CARTIER, 1963). On la relève dans des travaux finlandais (MARKKULA, 1963), polonais (JASIENSKA-OBREŚKA, 1964) et tchécoslovaques (KRALOVIC, 1970 *a*). Des données comparatives sur les deux formes sont fournies par MARKKULA (1963), LOWE et TAYLOR (1965), SUTHERLAND (1969 *a*, 1969 *b*), BONNEMAISON (1971) ; elles portent sur des critères morphologiques et biologiques (durée de vie, fécondité, aptitude à la production d'ailés, comportement). Sans entrer dans beaucoup de détails, je mentionnerai que la forme rose s'avère dans nos élevages,

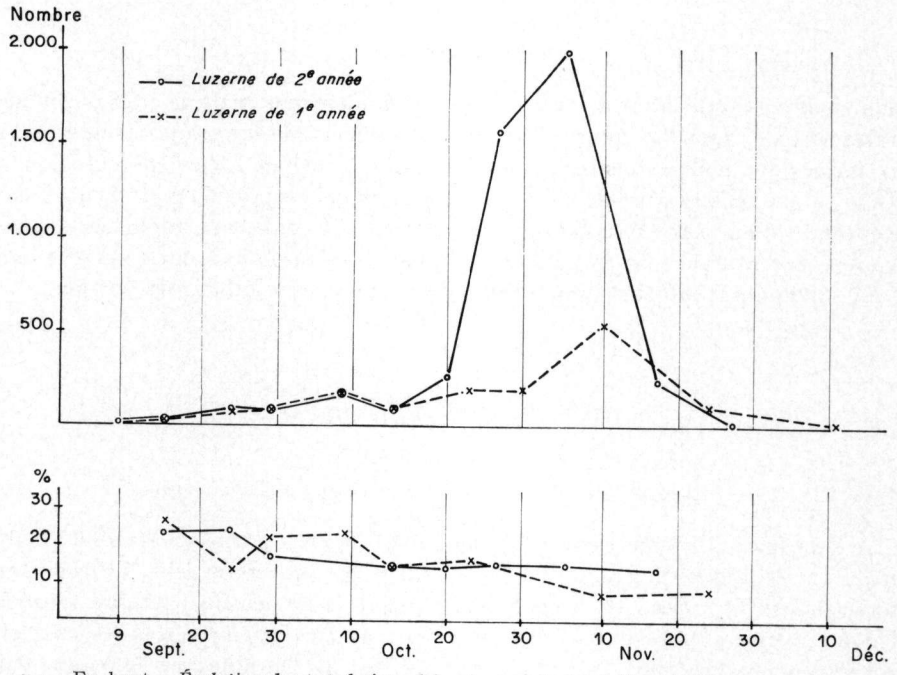


FIG. 2. — En haut : *Évolution des populations d'*A. pisum *à la fin de l'année 1970, à 78 - Grignon, sur des luzernières de 1er et 2e année.*
En bas : *Pourcentage de la forme rose d'*A. pisum *par rapport au nombre total d'individus sur ces parcelles.*

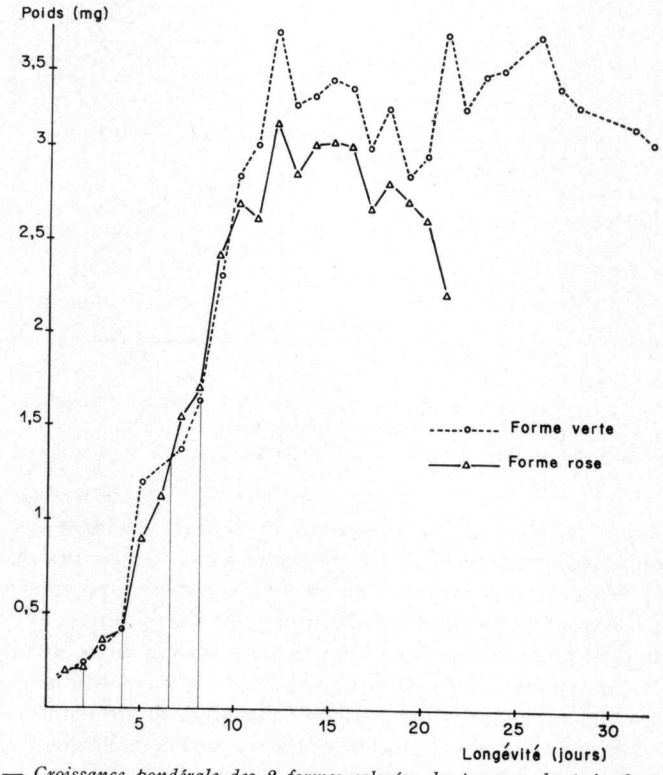


FIG. 3. — *Croissance pondérale des 2 formes colorées du puceron du pois élevé sur fève*
(les traits verticaux indiquent les mues)

moins vigoureuse que la forme verte. C'est une donnée que vient de citer récemment BONNEMAISON (1971). La figure 3 résume les données de croissance pondérale des deux formes que nous avons recueillies dans les luzernières. L'élevage a été conduit sur fève, à une température de 20 ± 2°C et sous une photopériode de 16 heures, dans une enceinte climatisée. On notera que la différence de poids, très faible lors de la vie larvaire, s'accentue lors de la période imaginale et s'amplifie à dater du 16e jour ; elle est suivie d'une mortalité importante des formes roses à dater du 20e jour.

HIVERNATION D'*A. PISUM*

1. — *Les sexupares et la possibilité d'anholocyclie*

A l'automne, l'effectif des populations d'*A. pisum* s'accroît. Ceci s'est produit dans la 1re décade de novembre en 1970 mais cette date varie selon les conditions extérieures. Ainsi, en 1968, elle a été observée lors de la 1re décade d'octobre. La répartition des divers morphes du puceron, est fournie, à titre d'exemple, d'après les relevés effectués sur une luzernière de première année (fig. 4). On note que les virginopares

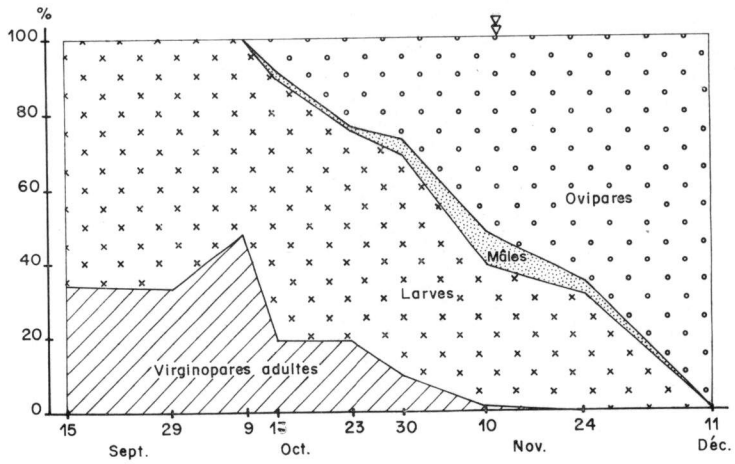


FIG. 4. — *Répartition, en pourcentage, des divers morphes d'*A. pisum *dans une luzernière de 1er année* (automne 1970)

La flèche indique la date du maximum automnal de population

disparaissent avant le début de décembre. Le cycle d'*A. pisum*, dans la région de Versailles est donc typiquement holocyclique ; nous avons trouvé des sexupares, tant aptères qu'ailés, des 2 formes colorées. Remarquons cependant que nous avons trouvé un individu parthénogénétique adulte de la forme verte le 19 janvier 1971. L'hivernation du puceron peut donc se faire occasionnellement sous la forme de virginopare, en Ile-de-France, ce que nous avions déjà noté en 1968. Les conditions climatiques de l'hiver 1970-1971 (fig. 5), incluant une période de froid vif fin décembre, où l'on relève un minimum absolu de — 24,5°C au niveau du sol, ont certainement rendu difficile

l'anholocyclie. GAUMONT (1929) a déjà signalé l'hivernation de virginopares d'*A. pisum*, en France. OSIPOV (1967) pense que le puceron du pois peut hiverner à l'état larvaire dans la région d'Orel (Sud-Est de Moscou) en supportant des températures diurnes moyennes de l'air de — 16,5°C. Dans une étude expérimentale de la résistance au froid de l'aphide, cet auteur souligne que plus le refroidissement est lent, plus les chances de survie sont grandes. LEES (1966) note également, en Grande-Bretagne et dans une même localité, la présence de lignées anholocycliques et holocycliques de ce puceron.

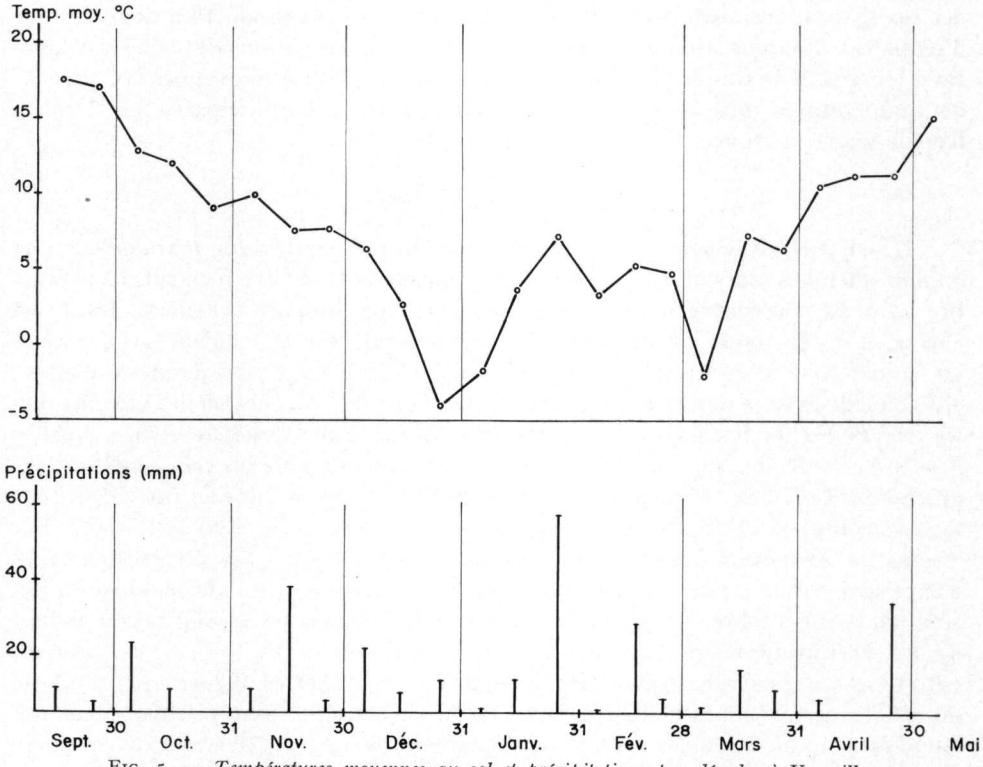


FIG. 5. — *Températures moyennes au sol et précipitations par décade, à Versailles, de septembre 1970 à mai 1971*

2. — *Les sexués*

Nous avons trouvé, dans nos relevés, des mâles et des ovipares des deux couleurs. Les mâles recueillis sont tous aptères. La présence de mâles aptères et de mâles ailés a justifié un certain nombre d'études quant à la spéciation et à la phylogénie du puceron du pois (HILLE RIS LAMBERS, 1963). KRALOVIC (1970 *a*), dans son étude récente de la dynamique saisonnière d'*A. pisum* en Tchécoslovaquie, sur luzerne, fait mention de mâles aptères et de mâles ailés.

MÜLLER (1962), dans ses élevages de sexués d'*A. pisum* provenant de *T. pratense* trouve que les ovipares de la forme rose prennent une teinte abdominale vert-jaunâtre, le thorax étant légèrement teinté de rose. En fait, nous avons observé le même phéno-

mène avec notre biotype « luzerne » ; la teinte de l'abdomen proviendrait à notre avis des œufs d'hiver que le puceron contient. Les œufs d'hiver sont en effet verts lors de la ponte. La couleur des ovipares se détermine donc au niveau thoracique, ce qui n'est pas toujours aisé.

Un fait important est la répartition de l'effectif des sexués : les mâles sont faiblement représentés (fig. 4). KRALOVIC (1970, *a*) note également ce fait ; ce pourrait être une caractéristique de l'espèce. Dans ses études expérimentales, KENTEN (1955) a montré que les mâles sont pondus, en condition de courte photopériode (8 heures), à la fin du cycle biologique des sexupares, après les ovipares. Les facteurs de mortalité des sexupares pourraient donc plus fortement influencer la production de mâles que d'ovipares. Ajoutons, toujours selon KENTEN, que la formation des mâles est favorisée, en sus de la courte photopériode, par des températures moyennes (15 à 20°C), les températures plus basses (5 à 13°C) avantageant celle d'ovipares. La dernière femelle sexuée a été recueillie le 12 janvier 1971.

3. — *Les œufs d'hiver*

Les œufs fraîchement pondus du puceron du pois sont verts, leur couleur vire au noir quelques jours après la ponte. Les premiers œufs ont été recueillis le 30 octobre 1970. Le pourcentage d'œufs de couleur verte, par rapport à l'effectif total, est encore de 13 p. 100 le 1er décembre ; le dernier œuf de cette couleur a été noté le 19 janvier 1971. C'est un relevé qui permet d'évaluer l'époque des dernières pontes ; elle coïncide avec la notation du dernier sexué. Dans les parcelles où ont été effectués les relevés d'œufs, il y a eu une importante invasion d'une Crucifère vivace, *Nasturtium sylvestre* R. BR., or, nous avons trouvé 10 p. 100 des œufs sur celle-ci. Nous rapprocherons ce fait de l'alimentation occasionnelle d'*A. pisum* sur une autre Crucifère, *Capsella bursa pastoris* MOENCH. (HILLE RIS LAMBERS, 1947 ; FRÖLICH, 1962). Sur luzerne, la répartition des œufs apparaît très caractéristique. Les diverses parcelles d'expérimentation ayant été coupées, pour la dernière fois de l'année, entre la mi-août et la mi-octobre, les pucerons disposaient de zones où la végétation variait de 0 à 50 centimètres de hauteur. Dans une énorme majorité (98 p. 100), les œufs ont été retrouvés à la base de la tige, à moins de 5 centimètres de hauteur, au niveau du collet, sur les jeunes feuilles d'où repart la végétation. DIVELY (1970), dans une étude sur la localisation des œufs du phytonome *Hypera postica* GYL., sur divers stades phénologiques de la luzerne, attire l'attention sur le microclimat protecteur existant, en hiver, à la base de la plante. D'après nos comptages, sur ces jeunes repousses, 95 p. 100 des œufs se trouvent sur la face supérieure des folioles, 4 p. 100 sous la foliole et 1 p. 100 sur le pétiole. Des relevés, opérés à un mois d'intervalle, avant la période d'apparition des fondatrices montrent que le pourcentage de disparition des œufs atteint 72. DUNN et WRIGHT (1955), rapportent une chute de 83 p. 100 de l'effectif des œufs d'*A. pisum* sur *Medicago lupulina* L.

4. — *Les fondatrices*

Les œufs recueillis au champ ont été mis par lots de 1 à 20, selon l'importance du relevé, dans de petites boîtes placées dans un insectarium soumis aux conditions thermiques externes. L'éclosion des œufs a eu lieu, en 1971, dans une forte proportion au mois de février (fig. 6). La date de la première éclosion (23 janvier) est très précoce;

en 1968, elle a été notée le 30 janvier. Ces époques n'ont guère d'équivalent, dans la bibliographie concernant *A. pisum*, que dans l'étude de DUNN et WRIGHT (1955) effectuée en Grande-Bretagne (début d'éclosions 15 février, maximum d'éclosions mi-mars). Les autres références font allusion à l'apparition des fondatrices en mars en Finlande (MARKKULA, 1963), au début de mars en Slovaquie du Sud (KRALOVIC, 1970 *a*) avec quelques éclosions fin février (KRALOVIC, 1970 *b*), au début avril en Tchécoslovaquie (STARY, 1968 *a*) à la fin avril en Pologne (JASIENSKA-OBREBSKA, 1964). Dans nos élevages, 21 p. 100 des œufs recueillis ont éclos. Les fondatrices étaient toutes de couleur verte mais 34 p. 100 d'entre elles ont pondu exclusivement des larves roses. A 15 ± 2°C et 16 heures de photopériode, nous avons obtenu une

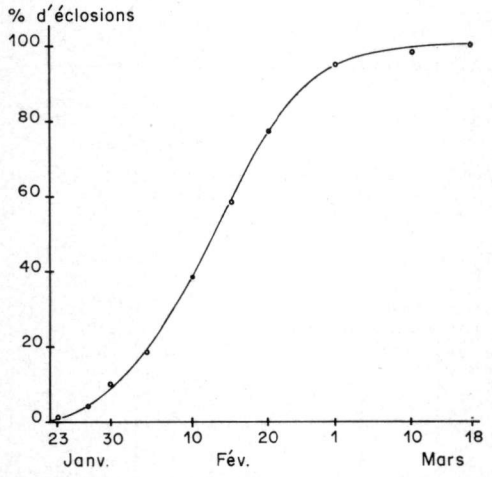


FIG. 6. — *Pourcentage cumulé, selon les dates des éclosions des œufs d'hiver du puceron du pois, en 1971, à Versailles*

excellente survie des fondatrices et de leur descendance. Les fondatrices à « potentialité rose », se distinguent, avant le début de leur ponte, par leur coloration abdominale. La présence d'embryons de couleur différente modifie leur apparence. C'est une action comparable aux variations de couleur des ovipares roses, dont nous avons précédemment parlé. Au champ, les premières fondatrices ont été recueillies le 9 février 1971. Il faut attendre la mi-avril (observations de 1968 et 1971), pour noter les premiers individus roses, qui sont alors des *fundatrigeniae*. Dans les conditions expérimentales signalées ci-dessus, la fécondité moyenne par adulte survivant des fondatrices (63,8 descendants), a été dépassée par celle des *fundatrigeniae* (97,2 larves). En raison probablement des élevages groupés, 20 p. 100 des *fundatrigeniae* sont ailés de même que 47 p. 100 des individus de la 3e génération.

HIVERNATION DES PARASITES DU PUCERON DU POIS

Lors des relevés au champ, nous avons ramassé de la mi-octobre à la première décade de janvier des aphides momifiés contenant des parasites (lot A). Nous les avons placés sous un abri soumis aux conditions thermiques externes. Sur 240 indi-

vidus recueillis, 51 p. 100 ont donné naissance à des Hyménoptères dont la figure 7 indique la répartition. Elle nous montre que le parasitisme primaire représente une moitié de l'effectif et que l'hyperparasitisme représente l'autre. Cependant, deux groupes se détachent : pour le parasitisme primaire, *Aphidius ervi* HAL., et pour le parasitisme secondaire, les *Chapirinae*.

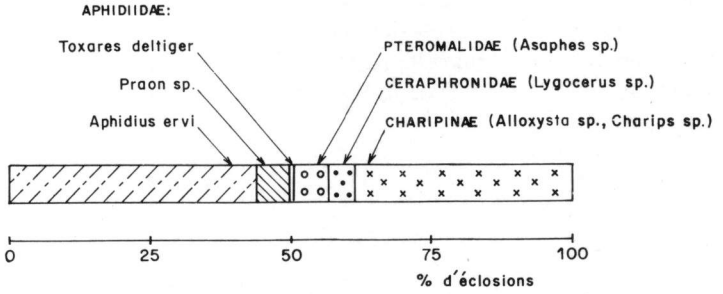


FIG. 7. — *Répartition systématique des éclosions de parasites et d'hyperparasites du lot A de pucerons momifiés* (hiver *1970-1971*)

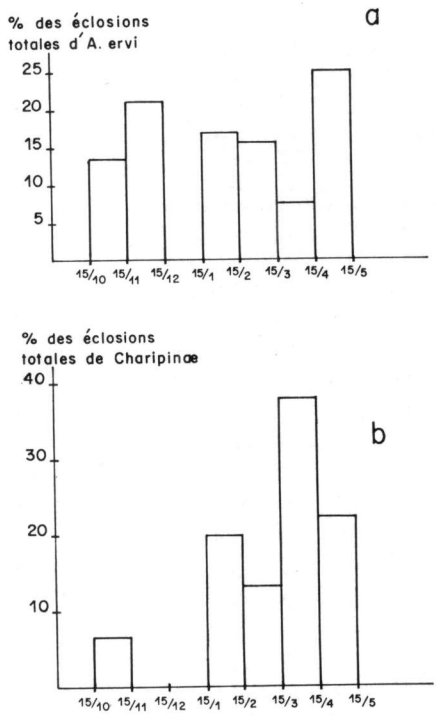


FIG. 8. — a) *Échelonnement des éclosions selon les dates d'*Aphidus ervi, *dans le lot A de pucerons momifiés d'octobre 1970 à mai 1971.*

b) *Échelonnement des éclosions, selon les dates, des Charipinae dans le lot A de pucerons momifiés lors de la même période.*

1. — *Le parasitisme primaire par* A. ervi

Dès le 20 octobre 1970, nous avons disposé d'individus qui n'écloront que trois mois plus tard. En fait, la répartition des éclosions hivernales d'*A. ervi* (fig. 8 *a*), montre qu'il n'y a guère que la période du 15 décembre au 15 janvier où l'éclosion de cet *Aphidiidae* cesse. C'est une coïncidence intéressante entre le puceron du pois et ce parasite, limité selon les données bibliographiques, à certaines espèces du genre *Acyrthosiphon* s'alimentant sur Légumineuses (MACKAUER, 1962). Un second contrôle du parasitisme effectué sur des aphides momifiés recueillis entre le 9 avril et le 3 mai 1971, (lot B), a montré l'efficacité de cette coïncidence, puisque les pucerons momifiés, qui étaient, selon les cas, des fondatrices ou des *fundatrigeniae* ont donné naissance à 94,5 p. 100 d'*Aphidius ervi* et seulement 5,5 p. 100 d'hyperparasites.

2. — *Les autres parasites primaires*

D'autres *Aphidiidae* doivent avoir un arrêt de développement beaucoup plus long puisque, dans le lot d'aphides momifiés recueillis à la fin de 1970 (lot A), les *Praon* sp. ne sont pas sortis avant le 15 avril 1971. Leur effectif (5 p. 100 des sorties) prouve qu'ils interviennent peu dans le parasitisme d'*A. pisum*, sur luzerne, dans la région versaillaise, ce que nous avaient suggéré nos observations antérieures. Les *Praon* signalés comme parasites d'*A. pisum* en Europe sont *Praon dorsale* (HAL.), *Praon volucre* (HAL.) (HOZAK, 1970). Les remarques de MACKAUER et FINLAYSON (1967), montrant la différenciation de *Praon barbatum* (MACK.) de *Praon dorsale* (HAL.), entraînent dans la littérature récente, la reconnaissance plus fréquente du premier nommé (STARY, 1971 ; STARY, REMAUDIÈRE, LECLANT, 1971).

Un *Aphidiidae* éclos le 8 avril correspond pour sa part à une nouvelle mention de parasite pour *A. pisum*. Il s'agit de *Toxares deltiger* HAL. Jusqu'ici, cette espèce n'était citée, dans le genre *Acyrthosiphon*, que sur *Acyrthosiphon caraganae* CHD. (STARY, 1958 ; MACKAUER et STARY, 1967). Les génitalia de la femelle (valves de l'ovipositeur), sont caractéristiques.

3. — *Le parasitisme secondaire*

C'est l'endoparasitisme qui est de loin le plus important dans la période étudiée, puisque les *Cynipoïdea* de la sous-famille des *Charipinae* représentent 38, 8 p. 100 des éclosions totales. A leur sujet, notons que c'est le genre *Alloxysta* qui est le plus fréquent (71 p. 100 des *Charipinae*) ; les autres endo-parasites appartiennent au genre *Charips*. L'étalement des sorties des individus du lot A (fig. 8 *b*) prouve une tendance chez les *Charipinae* à une apparition plus groupée et plus tardive que pour *A. ervi* (aucune sortie entre le 15-11 et le 15-12). Les hyperparasites ectoparasites apparaissent aussi tardivement ; il s'agit de *Lygocerus* sp. (*Proctotrupoïdea, Ceraphronidae*) et d'*Asaphes* sp. (*Chalcidoïdea, Pteromalidae, Sphegigasterinae*). Ils constituent chacun environ 5 p. 100 de l'effectif des sorties du lot A.

Dans le lot B, l'hyperparasitisme est très différemment réparti par rapport au lot A. Il ne représente, comme nous l'avons déjà signalé, qu'un faible pourcentage

des sorties et comporte surtout des *Lygocerus* sp. Il est d'ailleurs probable qu'il s'agit, pour ce dernier genre, des individus hivernants qui n'ont pas encore éclos avant le second ramassage.

4. — *Conclusions sur le parasitisme*

GAUMONT, dès 1929, signalait le parasitisme d'*A. ervi* aux dépens d'*A. pisum*. Les abondantes données des auteurs tchécoslovaques (STARY, 1968 *b*, 1969 ; KRALOVIC, 1970 *a* ; HOZAK, 1970), nous fournissent des données intéressantes pour l'efficacité de l'action de ce parasite sur le puceron du pois.

On est mal renseigné, en revanche, sur la répartition tant en espèces qu'en effectifs de l'hyperparasitisme. Dans les données de HOZAK (1970), on relève cependant que le parasitisme secondaire met en cause essentiellement les *Chalcidoïdea*. STARY (1969) signale que les hyperparasites ne deviennent actifs, au printemps, qu'après la première génération de parasites. Les données européennes, sur d'autres espèces de pucerons, traitent rarement de l'hyperparasitisme. L'étude de DUNN (1949) portant sur les parasites et prédateurs des aphides de la pomme de terre, révèle que l'hyperparasitisme représente de 44 à 55 p. 100 du parasitisme total des pucerons ; il s'agit surtout des genres *Asaphes* (70 p. 100) et *Lygocerus* (20 p. 100). Le travail de HAFEZ (1961), qui concerne l'action de *Diaretiella rapae* M'INTOSH., sur les populations de *Brevicoryne brassicae* L. note l'efficacité du parasitisme primaire au début du printemps et le retard d'apparition, à cette période, des hyperparasites où les *Charipinae* dominent de loin les *Pteromalidae*. Il nous semble que l'on ne peut pas ignorer dans la régulation des populations d'aphides, l'importance du parasitisme secondaire et qu'une approche globale est nécessaire.

CONCLUSIONS

L'un des buts de l'étude biologique d'un insecte nuisible est de préciser les facteurs conditionnant les pullulations. Pour la prognose d'*A. pisum*, KRALOVIC (1970 *b*, 1970 *c*) insiste sur :

— la densité des œufs à l'automne,

— le nombre de fondatrices et leurs possibilités de développement,

— le parasitisme des fondatrices par *A. ervi*. STARY (1970) attire particulièrement l'attention sur le rôle des facteurs climatiques sur les premières générations du puceron. Les observations que nous avons effectuées dans la région de Versailles permettent les conclusions suivantes :

1° Possibilité d'anholocyclie du biotype, assez étroitement inféodé, parmi les légumineuses, à la luzerne. Les formes roses s'avèrent moins vigoureuses que les formes vertes.

2° Pourcentage d'œufs féconds dépendant très certainement de l'effectif des mâles.

3° Mortalité élevée des œufs : au cours de l'hiver 1970, les pertes d'œufs sur le

végétal atteignent 72 p. 100. Dans des lots soumis aux conditions thermiques externes, près de 80 p. 100 des œufs n'éclosent pas.

4° L'éclosion des œufs d'hiver est précoce. Les dates relevées en 1968 et 1970 coïncident et il est intéressant de les comparer à celles d'autres espèces d'aphides, présentant une certaine importance économique en France. Si l'on excepte la zone méditerranéenne, où BERVILLE *et al.* (1968) signalent des éclosions de *Myzus persicae* SULZ. sur pêcher dès le 1er février, il est rare que les auteurs signalent une apparition aussi précoce. Ainsi, sur pommier, GENDRIER et REBOULET (1970) indiquent pour *Aphis pomi* DE GEER et *Rhophalosiphum insertum* WLK. des dates de première éclosion fin mars ou début avril. Pour *Dysaphis plantaginea* PASS., BONNEMAISON (1951) relève des éclosions lors de la première décade d'avril. Ces périodes correspondent d'ailleurs au début du débourrement des arbres. Cela ne signifie pas qu'un réchauffement précoce ne soit pas à même d'entraîner occasionnellement des éclosions anticipées. C'est ainsi que BONNEMAISON (1971) indique, pour *Myzus persicae*, sur pêcher, des éclosions de fondatrices dès la mi-février, dans la région de Versailles, mais la phénologie de la plante est comparativement en retard, ce qui provoque une forte mortalité des fondatrices nouvellement nées. Nous avons souligné que, sur la luzerne, la jeune végétation du niveau du collet permet cette alimentation des fondatrices nouvellement écloses. Cette possibilité profite également aux pucerons du pois anholocycliques. De même, c'est sur des plantes à feuillage persistant (chou, colza, épinard), que certaines lignées anholocycliques de pucerons (*B. brassicae*, *M. persicae*) se maintiennent, en hiver, dans la région parisienne (BONNEMAISON, 1971 *a*). En Bretagne, ROBERT (1969) a montré que l'état du végétal est un facteur important du maintien de lignées agames de *Capitophorus horni* BÖRNER sur artichaut.

5° La coïncidence d'apparition du parasite *A. ervi* avec les fondatrices du puceron du pois est remarquable. Il s'ensuit un parasitisme efficace des premières générations du puceron, d'autant plus intéressant, qu'il faut attendre la mi-avril pour relever la reprise d'activité de *Coccinella septempunctata* L. dans les luzernières. Le prédatisme par la coccinelle *Propylaea quatuordecimpunctata* L. et par les punaises *Nabidae* n'intervient que plus tardivement.

Ces données peuvent être également interprétées, en cas de nuisance du puceron du pois, pour une exploitation raisonnée du champ de luzerne. A l'automne, la date de la quatrième récolte, qui ne représente guère que le dixième de la production annuelle du champ de luzerne, peut être choisie de manière à restreindre l'abondance des formes sexuées du puceron. Elle permettrait d'éviter le dépôt d'un certain pourcentage d'œufs d'hiver, et empêcherait l'affaiblissement de la plante à la veille de l'hiver par les aphides, la mauvaise saison étant critique pour le maintien de la population végétale (DEMARLY, 1957). Dans les zones à tendance océanique de la France, la date de cette dernière coupe (1er novembre), qui peut être assez facilement avancée, se prête à cette interférence, en fonction de la dynamique locale des populations de pucerons. En revanche, une coupe tardive ne permettrait pas de supprimer les œufs d'hiver des aphides, en raison de la localisation de ceux-ci sur la plante et, bien entendu, favoriserait le maintien des pucerons au champ. Au printemps, la première coupe, vers le 20 mai, intervient dans des conditions que l'étude présente ne permet pas de préciser. Cependant ses répercusions sur la régulation des populations par les agents biotiques, sont prévisibles, en raison notamment des épo-

ques différées d'apparition d'*A. pisum* et d'*A. ervi* d'une part, et des parasites secondaires d'autre part.

Reçu pour publication en juillet 1972.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. BONNEMAISON des conseils qu'il nous a donnés pour la rédaction de ce travail ainsi que M. DESMIER de CHENON qui nous a fourni des références sur les Térébrants.

SUMMARY

ECOLOGICAL OBSERVATIONS ON THE HIBERNATION OF THE PEA APHID *ACYRTOSIPHON PISUM* HARRIS AND ITS PARASITES IN THE VERSAILLES AREA

According to our *A. pisum* rearings, the biotype found on alfalfa in the Versailles area, accepts beans and clover as host-plants, but fails on peas. The pink colored form of the pea aphid proves less vigorous than the green form.

The hibernation of this Aphid is mostly holocyclic, the eggs being located on the young latent shoots of the root-collar, but there are possibilities of anholocyclic generation.

The appearance of fundatrices is very early (February), they may be supported on the young vegetation at the base of the plants.

Primary parasitism by *Aphidiidae* offers good coincidence with the life cycle of the aphid, *Aphidius ervi* HAL being able to parasitize sexuales and fundatrices. Secondary parasitism representing about 50 p. 100 of the « mummified » hibernating aphids is mostly the fact of *Charipinae* (*Alloxysta* and *Charips*). However it is more belated than primary parasitism, so that the parasitism of fundatrices by *Aphidius ervi* may be efficient.

Owing to the localization of winter eggs of the aphid, it appears that the only handling possible on the hibernating populations of *A. pisum* on alfalfa is to choose a period of autumn cutting that is disturbing for the sexuparae and sexuales populations, thus preventing egg-laying by the oviparous.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AUCLAIR J. L., 1966. Dissimiralities in the biology of pea Aphid, *Acyrthosiphon pisum* (Homoptera, Aphididae) on alfalfa and peas in New Mexico. *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **59**, 780-786.

BALOGH J., LOKSA I., 1956. Untersuchungen über die Zoozönose des Luzernenfeldes. *Acta. zool. hungaricae*, **2**, 17-144.

BERVILLE P. *et al.*, 1968. Observations sur le puceron vert du pêcher dans l'Hérault et le Gard en 1968. *Phytoma*, **203**, 27-35.

BONNEMAISON L., 1951. Contribution à l'étude des facteurs provoquant l'apparition des formes ailées et sexuées chez les *Aphidinae*. Thèse Fac. Sc. Paris, 380 p. *Ann. I. N. R. A. sec. Épiphyties*, **2**, 1-380.

BONNEMAISON L., 1965. Observations écologiques sur *Aphelinus mali* HALDEMAN parasite du puceron lanigère (*Eriosoma lanigerum* HAUSMANN). *Ann. Soc. entomol. Fr.*, **1**, 143-176.

BONNEMAISON L., 1971 *a*. Observations sur les fluctuations des populations aphidiennes du chou, de la betterave et de la pomme de terre. *Ann. Soc. entomol. Fr.*, **7**, 505-551.

BONNEMAISON L., 1971 *b*. Action de la maturité de la plante-hôte et de l'effet de groupe sur la production de virginopares ailés chez le puceron du pois (*Acyrthosiphon pisum*). *Ann. Soc. entomol. Fr.*, **7**, 889-913.

BOURNOVILLE R., 1971. Données biologiques d'un biotype du puceron du pois, *Acyrthosiphon pisum* (Homoptera : Aphididae). *Canad. Entomol.*, **103**, 876-881.

CARTIER J. J., 1963. Les formes du puceron du pois dans le Sud de Québec. *Canad. Entomol.*, **95**, 558-560.

CARTIER J. J., 1965. Les races du puceron du pois. *Canad. Entomol.*, **96**, 107-108.

DEMARLY Y., 1957. Biologie et exploitation de la luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **7**, 247-272.

DIVELY G. P., 1970. Overwintering alfalfa weevil eggs in three stages of alfalfa growth in New Jersey *Ann. entomol. Soc. Amer.*, **63**, 1213-1216.

DUNN J. A., 1949. The parasites and predators of potato aphids. *Bull. entomol. Res.*, **40**, 97-122.

DUNN J. A., WRIGHT D. W., 1955. Overwintering egg populations of pea Aphid in East Anglia. *Bull. entomol. Res.*, **46**, 389-392.

FRÖHLICH G., 1962. Das Verhalten der Grünen Erbsenlaus *Acyrthosiphon pisum* (HARRIS) gegenüber verschiedenen Wirtspflanzen und Temperaturveränderungen. *Z. angew. Entomol.*, **51**, 55-68.

GAUMONT L., 1929. Conditions générales de pullulation des Aphides. *Ann. Épiphyties*, **15**, 256-316.

GENDRIER J. P., REBOULET J. N., 1970. Exemples d'application des méthodes de lutte intégrées contre les ravageurs des pommiers et des pêchers dans la moyenne vallée du Rhône. *Bull. tech. Inform.*, **249**, 323-334.

HAFEZ M., 1961. Seasonal fluctuations of population density of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) in the Netherlands and the role of its parasite, *Aphidius* (*Diaretiella*) *rapae* (CURTIS). *Meded. Lab. entomol.*, **71**, 103 p.

HILLE RIS LAMBERS D., 1947. Contribution to a monograph of the Aphididae of Europe. *Temminckia*, **7**, 181-319.

HILLE RIS LAMBERS D., 1963. On the forms of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* (HARRIS). *Aphidologists' Newsletter*, Québec, **2**, 4, 3-4.

HILLE RIS LAMBERS D., 1966. Polymorphism in Aphididae. *Annu. Rev. Entomol.*, **11**, 46-78.

HOZAK A., 1970. The pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* (HARRIS) and its parasites on alfalfa in Czechoslovakia (Hym. Aphidiidae ; Hom. Aphidoidea). *Acta Univ. Carolinae. Ser. Biol. Prague*, 371-415.

JASIENSKA-OBREBSKA E., 1964. The occurence of aphids on lucerne according to the author's own observations (en polonais). *Buil. Inst. Ochr. Rosl.*, **26**, 35-48.

KENTEN J., 1955. The effect of photoperiod and temperature on reproduction in *Acyrthosiphon pisum* and the forms produced. *Bull. Entomol. Res.*, **46**, 599-624.

KRALOVIC J., 1970 *a*. Studium der Saisondynamik der Erbsentblattlaus (*Acyrthosiphon pisum* HARRIS) unter den Bedingungen der Südwestslowakei (en tchèque). *Biol. Prace*, **16**, 51 p.

KRALOVIC J., 1970 *b*. Prognosis of *Acyrthosiphon pisum* HARRIS (Homoptera, Aphididae) (en tchèque). *Pol'nohospodarstvo.*, **16**, 565-574.

KRALOVIC J., 1970 *c*. Prognose der Erbsenblattlaus *Acyrthosiphon pisum* HARRIS. *Congr. internation. Protection Plantes*, 7, Paris, 655-656.

LEES A. D., 1966. The control of polymorphism in aphids. *Adv. Insect Physiol.*, **3**, 207-277.

LOWE H. J. B., TAYLOR L. R., 1964. Population parameters, wing production and behavior in red and green *Acyrthosiphon pisum* HARRIS. *Entomol. exper. appl.*, **7**, 287-295.

MACKAUER M., 1962. Spezifische Parasiten der *Acyrthosiphon-Macrosiphum* Gruppe und Grundfragen der Wirtsbindung der Blattlaus-Schlupfwespen (Homoptera : Aphididae. Hymenoptera : Ichneumonoidea : Aphidiidae). *Z. angew. Entomol.*, **50**, 125-131.

MACKAUER M., FINLAYSON T., 1967. The hymenopterous parasites (Hymenoptera : Aphidiidae and Aphelinidae) of the pea aphid in Eastern North America. *Canad. Entomol.*, **99**, 1051-1082.

MACKAUER M., STARY P., 1967. Hymenoptera Ichneumonoidea, World Aphidiidae. In : *Index of Entomophagous Insects*, 195 p. Delucchi V. et Remaudière G. (Éditeurs), Le François, Paris.

MARKKULA M., 1963. Studies on the pea Aphid, *Acyrthosiphon pisum* HARR. (Homoptera : Aphididae) with special reference to the differences in the green and red forms. *Ann. Agric. fenn. ser. Anim. nocen.*, **7**, 1-30.

MEIER W., 1964. Uber einen Caudalhaarindex zur Charakterisierung von Klonen der Erbsenblattlaus, *Acyrthosiphon pisum* HARRIS. *Mitt. Schweiz. entomol. gesellsch.*, **37**, 1-41.

MÜLLER F. P., 1962. Biotypen und Unterarten der « Erbsenlaus » *Acyrthosiphon pisum* HARRIS. *Z. Pflanzenkrankh. Pfanzenschutz*, **69**, 129-136.

MÜLLER F. P., 1970. Blattlausbiologie, Faunistik und Evolution. *Polskie Pismo. entomol.*, **40**, 435-446.

MÜLLER F. P., 1971. Isolationsmechanismen zwischen sympatrischen bionomischen Rassen am Beispiel der Erbsenblattlaus *Acyrthosiphon pisum* HARRIS. (Homoptera, Aphididae). *Zool. Jb. Syst.*, **98**, 131-152.

OBRTEL R., 1969. The insect fauna of the herbage stratum of lucerne fields in Southern Moravia. *Acta. Sci. natur. Acad. Sci. bohemosl. Brno.*, **3**, 1-49.

OSIPOV G. V., 1967. On cold resistance of the pea aphid *Acyrthosiphon pisum* HARRIS. (Homoptera, Aphididae). (En russe). *Zool. Zh.*, **47**, 137-139.

ROBERT Y., 1969. Premières observations sur la biologie des *Capitophorus horni* BÖRNER (Homoptera : Aphididae) dans l'Ouest de la France. *Ann. Zool. Écol. anim.*, **1**, 39-54.

SAUGSTAD E. S., BRAM R. A., NYQUIST W. E., 1967. Factors influencing sweep-net sampling of alfalfa. *J. econ. Entomol.*, **60**, 421-425.

STARY P., 1958. A taxonomic revision of some aphidiid genera with remarks on the subfamily Aphidiinae. *Acta. faun. entomol. Musei nat. Pragae.*, **3**, 53-96.

STARY P., 1968 *a*. Population dynamics of alfalfa pest aphids (Homopt, Aphidoidea) in Czechoslovakia. *Boll. Lab. Entomol. agrar. Filippo Silvestri*, **26**, 271-292.

STARY P., 1968 *b*. Impact of an indigenous parasite, *Aphidius ervi* HAL. on pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* (HARRIS) populations on alfalfa in Czechoslovakia. *Boll. Lab. Entomol. agrar. Filippo Silvestri* **26**, 293-313.

STARY P., 1969. Density dependance in field populations of *Aphidius ervi* HAL., a parasite of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* HARRIS in Czechoslovakia (Hym. Aphidiidae ; Hom. Aphididae) *Boll. Lab. Entomol. agrar. Filippo Silvestri*, **27**, 219-252.

STARY P., 1970. On the prognosis of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* HARRIS on alfalfa (en tchèque). *Ochr. rostl.* (Praha), **6**, 103-109.

STARY P., 1971. Alternative hosts of *Aphidius smithi*, an introduced parasite of the pea aphid in central Europe. *Ann. Soc. entomol. Fr.*, **7**, 351-355.

STARY P., REMAUDIÈRE G., LECLANT F., 1971. Les Aphidiidae (Hym.) de France et leurs hôtes (Hom. Aphididae). Description d'espèces nouvelles, écologie, lutte biologique. *Entomophaga*, Mémoire H. S., 5, 74 p.

SUTHERLAND O. R. W., 1969 *a*. The role of crowding in the production of winged forms by two strains of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. *J. Insect Physiol.*, **15**, 1385-1410.

SUTHERLAND O. R. W., 1969 *b*. The role of the plant in the production of winged forms by two strains of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. *J. Insect Physiol.*, **15**, 2179-2201.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 29-37.

VOLTINISME, DIAPAUSE ET SEX-RATIO DE *CHRYSOPA PERLA* (L.) (*NEUROPTERA, CHRYSOPIDAE*) DANS LE SUD-OUEST

M. CANARD
avec la collaboration de P. MILLOT

Laboratoire d'Entomologie,
Unité de Biologie expérimentale, Université Paul-Sabatier,
118, route de Narbonne
31077 Toulouse Cedex

RÉSUMÉ

Chrysopa perla est polyvoltine dans le sud-ouest de la France : une génération se développe au printemps, deux en été et quelques adultes peuvent donner naissance à l'automne à une quatrième génération réduite. A la fin du printemps, 75 p. 100 des prénymphes sont en diapause à l'intérieur du cocon ; pour la seconde génération 42 p. 100 et pour la 3e, 99 p. 100. Les émergences les plus précoces se produisent d'une manière simultanée en mai pour l'ensemble de la population ayant hiverné ; elles s'échelonnent ensuite sur une longue période (9 semaines). La mortalité est de 21 p. 100 au cours de la diapause, puis de 14 p. 100 jusqu'à l'émergence. Une quantité importante des prénymphes n'arrivent pas à sortir de diapause et meurent graduellement. La sex-ratio est différente suivant les générations (été = 0,54 ; printemps, 0,44). Au printemps, l'émergence beaucoup plus rapide des mâles entraîne leur surnombre temporaire.

Parmi les prédateurs aphidiphages, les Névroptères jouent un rôle dont nous ne connaissons guère l'importance et qui est diversement apprécié par les auteurs (revue de HAGEN et VAN DEN BOSCH, 1968). Il y a relativement peu d'études les concernant et notre ignorance à leur sujet est grande. Pour de nombreuses espèces considérées cependant comme banales, nous ne savons rien du nombre de générations annuelles possibles, ni de la forme d'hibernation. Ainsi dans les récents ouvrages de H. et U. ASPÖCK (1964, 1969) consacrés aux Névroptères d'Europe moyenne, pour les seuls Hémérobides et Chrysopides soit 69 espèces, 8 au moins d'entre elles sont totalement inconnues pour leur voltinisme et 16 sont douteuses ; pour 21 espèces

le stade d'hibernation n'est pas identifié et il n'est que supposé pour au moins 16. De plus, les stades larvaires de certaines espèces ne sont pas encore tous connus. C'est dire les lacunes qu'il faut combler dans ce domaine pour avoir une vue plus juste de l'aide que l'on peut attendre et éventuellement susciter de la part de ces auxiliaires.

Les Chrysopes de nos pays sont peut-être moins méconnues, principalement celles que l'on rencontre dans les cultures. A la moitié d'entre elles environ, on attribue un cycle strictement monovoltin ; les autres sont polyvoltines ou inconnues à ce point de vue. L'hibernation dans le plus commun des cas est assurée par la prénymphe en diapause dans son cocon ; néanmoins, quelques espèces font exception, telles *Chrysopa carnea* STEPHENS et *Chrysopa gracilis* SCHNEIDER qui hivernent en diapause imaginale ainsi que *Chrysopa ventralis* CURTIS et *Chrysopa flavifrons* BRAUER que l'on trouve en hiver sous forme de larve libre de troisième stade.

Chrysopa perla (L.) est une espèce largement répandue dans l'Ancien Monde et assez fréquente chez nous en milieu buissonnant, éventuellement en prairie et jardin. Sa biologie est d'un type classique, avec une ou plusieurs générations annuelles ; elle entre en diapause sous forme de prénymphe en cocon, puis se nymphose au printemps. Les imagos apparaissent au mois de mai et sont présents jusqu'au mois de septembre. Des élevages de masse suivis pendant quelques années dans la région de Toulouse nous ont permis de préciser quelques points de sa biologie que nous exposons ici.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les diverses observations qui suivent ont été faites dans les conditions climatiques de la région de Toulouse. Les élevages qui ont servi à les établir ont été installés à l'extérieur du laboratoire, mais toutefois à l'abri de l'insolation directe, des vents violents qui sont fréquents ainsi que de la pluie. Les cages utilisées sont en verre et en laiton à maille fine ; elles mesurent 58 × 38 × 48 cm. Larves et adultes élevés globalement sont approvisionnés en Pucerons d'espèces variées, récoltés dans la nature et apportés sur tiges et feuilles qui sont ensuite laissées dans la cage. Cela forme une litière sèche assurant des caches aux larves et un milieu favorable au tissage des cocons. Les adultes ont en outre à leur disposition de l'eau dans un abreuvoir garni de coton afin d'éviter les noyades et une pâtée de miel et pollen distribuée périodiquement sur bandes de papier filtre.

Les cocons sont récupérés par nettoyage complet des cages. Après émergence des imagos, les cocons en diapause sont conservés dans une boîte transparente dans le même local, afin de ne pas perturber les actions éventuelles de la photopériode et de la thermopériode.

LE CYCLE

Nous avons pu constater à partir des élevages qu'il y a à Toulouse trois vols d'adultes et éventuellement un quatrième vol partiel se situant à l'automne. Les dates d'apparition des divers stades caractéristiques sont inscrites dans le tableau 1. Elles donnent la durée minimum de chaque étape de développement des Chrysopes dans la population élevée. La quatrième et dernière génération n'a pas été suivie

TABLEAU I

Éléments du cycle de Chrysopa perla (*L.*)
dans la région de Toulouse

	Date des premières apparitions					Nombre de		Cocons en diapause		Durée minimum du cycle en jours (d'œuf à œuf)	
	imago		ponte	éclosion	cocon	cocons sains	imagos obtenus	nombre	p. 100	avec diapause	sans diapause
1re génération (printemps)	i_P	(♂) 21-4 (♀) 26-4	4-5	12-5	2-6	180		134	74	365	
							46				54
2e génération (été)	i_{E1}	20-6	27-6	2-7	22-7	218		113	52	311	
							105				42
3e génération (été)	i_{E2}	2-8	8-8	14-8	28-8	360		358	99	269	
							2				53
4e génération (automne)	i_A	18-9	27-9	6-10	—	—	—	—	—	—	—

en automne dans les conditions extérieures ; néanmoins d'autres cocons venant d'élevages faits au laboratoire et obtenus à des dates analogues (du 20 au 25 octobre), puis placés dans les mêmes conditions que les autres, ont montré que lorsque la diapause est induite à cette époque pourtant tardive, les émergences ont lieu normalement (du 7 au 25 mai), sans retard considérable par rapport aux autres générations. Aussi, les larves présentes à l'automne en petit nombre peuvent-elles terminer leur développement ; le seul facteur décisif est la présence de proies à proximité, car les Pucerons ne restent alors abondants que sur certaines plantes. C'est le cas pour le Puceron *Dactynotus sonchi* (L.) qui vit sur Helminthia : *Picris echioides* L. et qui s'y trouve communément et en abondance jusqu'à la mi-décembre.

LES ENTRÉES EN DIAPAUSE

Ch. perla se comporte comme une espèce polyvoltine avec une diapause partielle à chaque génération. Le pourcentage de cocons qui n'évoluent pas directement (tabl. 1) montre que dès la première génération près des trois quarts de la population entrent en diapause jusqu'à l'année suivante, c'est-à-dire pendant plus de 9 mois. A la génération suivante, ce taux dépasse de peu la moitié et à la deuxième génération d'été, il avoisine la totalité.

LES ÉMERGENCES

Les émergences ont lieu à partir des derniers jours d'avril ou des premiers jours de mai. Les observations de deux années portant sur 520 cocons issus de l'ensemble des générations de l'année précédente permettent de faire quelques remarques à ce sujet.

1° Les émergences les plus précoces au printemps ont été simultanées pour les cocons issus des trois générations de l'année précédente. Que la diapause ait été induite au cours de la première génération, c'est-à-dire au mois de mai et de juin ou au contraire pendant la troisième génération, c'est-à-dire en septembre, les sorties printanières ont commencé à 3 jours près à la même date. On a vu parallèlement qu'il en était de même pour les individus dont la diapause induite artificiellement au laboratoire en octobre, se déroule dans des conditions naturelles.

2° La durée des émergences a été particulièrement longue et s'est échelonnée irrégulièrement sur 9 semaines (fig. 1). On peut voir que :

50 p. 100 des imagos sont sortis avant la moitié de la troisième semaine,

90 p. 100 des imagos, avant la fin de la cinquième semaine. Il est à noter cependant que les adultes issus des cocons en diapause longue sortent d'une manière plus groupée et en moyenne plus précoce : ils sont tous sortis avant la fin de la quatrième semaine.

3° Moins de la moitié seulement des cocons donnent naissance à des adultes normaux au cours du printemps. Le reste de la population a une destinée variable.

Quelques adultes, venant tous de la dernière génération effective de la fin de l'été, ont une sortie différée : en effet, on a obtenu 4 adultes normaux début juillet. Quant aux cocons restants (54 p. 100 de la population) ils meurent sans donner d'imagos.

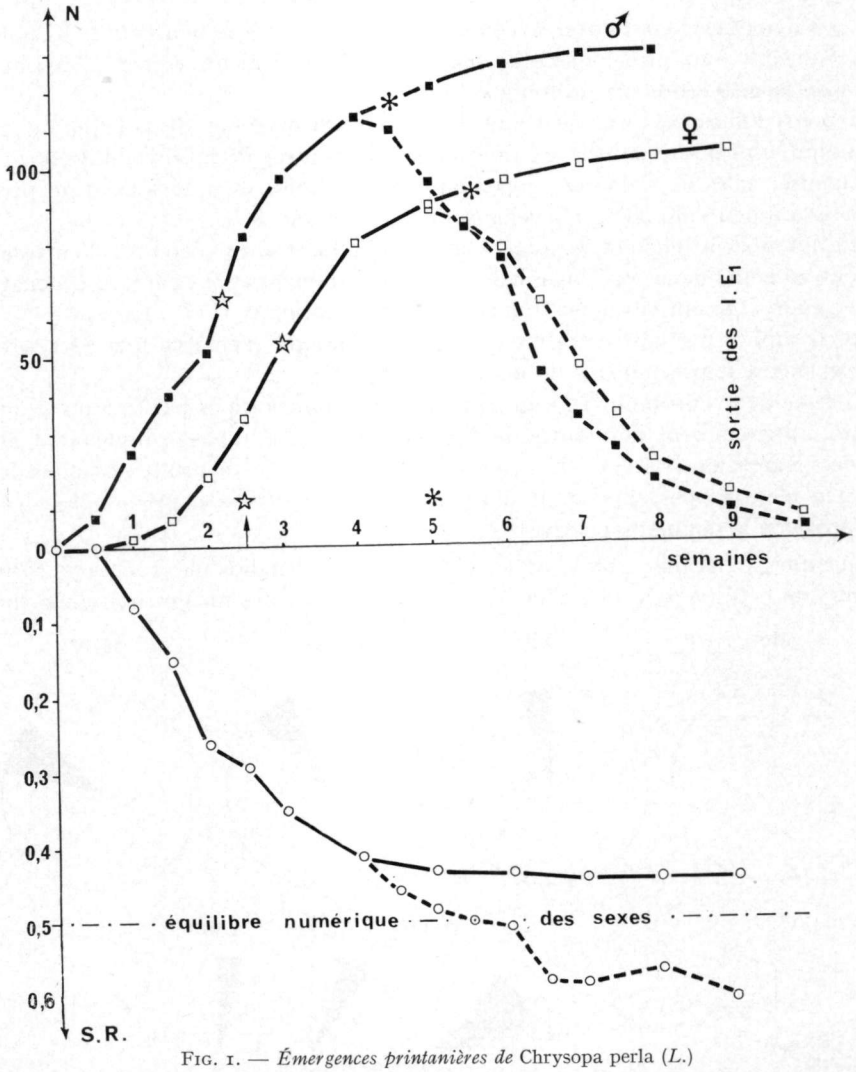


FIG. 1. — *Émergences printanières de* Chrysopa perla (*L.*)

Le trait plein concerne l'ensemble de la population sortant d'hibernation ; le trait interrompu concerne la population vivante. N = nombre d'individus. — I. E_1 = imagos d'été. — S. R. = sex-ratio. — ☆ = sortie de 50 p. 100 de l'effectif. — ✻ = sortie de 90 p. 100 de l'effectif.

LA MORTALITÉ

Cette très forte défection à l'émergence nous a amené à examiner l'état de la population en diapause au cours de l'année (fig. 2). Des prélèvements d'échantillons répartis sur deux années d'observations ont permis de constater que la mort des

Chrysopes intervient à des dates très différentes suivant les individus. La mortalité, notée en noir sur la figure 2, est exprimée en pourcent d'une population primitive de 687 prénymphes. Ainsi donc, dans 100 cocons sains et bien constitués récoltés durant l'été (fig. 2 *a*) :

5 prénymphes sont mortes à l'entrée de l'hiver (prélèvement du 1 décembre, fig. 2 *b*) ; elles sont principalement, mais non exclusivement, recrutées parmi les cocons de la génération de printemps,

7 prénymphes meurent au cours de l'hiver (prélèvement du 1 mars, fig. 2 *c*),

9 prénymphes succombent en fin d'hiver, au moment de la sortie physiologique de diapause ; elles ne marquent cependant aucun indice de transformation préparatoire à la mue nymphale (prélèvement du 15 avril, fig. 2 *d*),

49 nymphes atteignent le stade nymphe libre sortie du cocon ; 4 d'entre elles meurent au cours de la mue imaginale ou immédiatement après, par non-évacuation du méconium. On obtient donc 45 imagos sains et normaux (I. P., fig. 2 *e*).

10 nymphes pendant cette même période n'ont pas l'énergie que nécessite la sortie et meurent prisonnières de leur cocon (fig. 2 *e*).

Il reste donc encore au 15 juin 20 cocons qui sont occupés par une prénymphe vivante, apparemment non sortie de diapause. Ces prénymphes proviennent aussi bien des générations de l'été (I. E_1 et I. E_2) que de celle du printemps précédent. Très peu d'entre elles survivront dans les conditions de stockage adoptées et se *réintégreront* à la population active :

quelques individus seulement (I. E′), c'est-à-dire moins de 1 p. 100 sortent au cours de l'été (vers le 15 juillet, fig. 2 *f*) et donnent des imagos normaux qui se

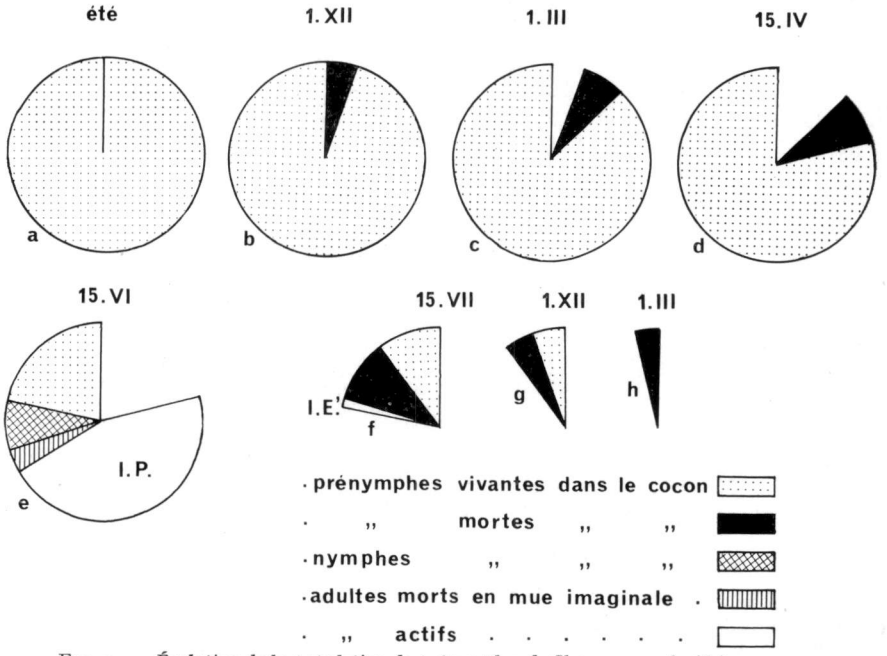


FIG. 2. — *Évolution de la population de prénymphes de* Chrysopa perla (*L.*) *en cocon*
I. P. : imagos de printemps
I. E′ : imagos à sortie différée

fondent dans la population issue de la première génération d'été (I. E_1) ; à cette même date, 9 prénymphes sont déjà mortes. Les 10 restantes mourront aussi à des dates plus ou moins tardives :

6 meurent pendant l'été et l'automne (prélèvement du 1 décembre, fig. 2 *g*),

4 meurent pendant l'hiver. Ainsi, au 1 mars de l'année suivante, soit 20 mois après leur entrée en diapause, il n'y a plus de survivant (fig. 2 *h*).

LA SEX-RATIO

Le rapport numérique des sexes est exprimé ici par :

$$\text{S. R.} = \frac{\text{Nombre de femelles}}{\text{Nombre de (mâles + femelles)}}$$

Ce rapport varie au cours de l'année, d'une part entre les générations d'été et la génération de printemps et d'autre part au cours de cette même génération de printemps. En effet, la durée de la nymphose est un peu plus courte chez le mâle : au laboratoire où la différence peut être précisée, celle-ci est en moyenne de 1,5 jour à 20° ; aussi n'est-il pas étonnant que cette différence atteigne près d'une semaine dans les conditions climatiques qui sont celles de la nymphose printanière. Les mâles sortent donc plus précocement et sont seuls pendant quelques jours. Mais ce déséquilibre en leur faveur va évidemment en s'atténuant par la suite, au fur et à mesure des émergences. L'analyse des sorties printanières de 234 cocons (fig. 1) montre que la sex-ratio pour l'ensemble de la population ayant hiverné atteint la valeur de 0,44 (en trait plein sur la fig. 1).

L'étalement considérable des émergences de printemps dépasse largement la longévité des imagos. Dans les conditions d'observation qui sont les nôtres, cette longévité moyenne est de 28 $\pm$ 4,2 jours et elle n'est pas significativement différente pour les deux sexes. La sex-ratio définie plus haut n'est donc réelle que pendant les 4 premières semaines de vie imaginale de la population. A partir de là, l'expression de la sex-ratio de la population active doit tenir compte de la mortalité naturelle ; elle est notée en trait interrompu sur la figure 1. L'équilibre numérique des sexes y est établi au cours de la sixième semaine d'émergence ; à compter de ce moment, les femelles sont en léger surnombre.

Dans les générations suivantes, les femelles sont toujours un peu plus nombreuses que les mâles. Comptée sur 944 cocons n'étant pas entrés en diapause, la sex-ratio de la fraction polyvoltine est de 0,54. Il en est de même dans la souche entretenue en développement continu au laboratoire.

CONCLUSION

Ch. perla est une espèce reconnue comme potentiellement polyvoltine. Pour LACROIX (1921), elle a deux générations par an dans notre pays, bien qu'elle puisse n'en avoir exceptionnellement qu'une seule. KILLINGTON (1937) observe en Angleterre une deuxième génération partielle, tout au moins certaines années. Il n'est donc pas étonnant de trouver trois, voire quatre générations dans le midi de la

France. Toutefois, une part importante de la population évolue ici d'une manière monovoltine, entrant donc très tôt en saison dans une diapause de longue durée. Les travaux récents sur la diapause des Chrysopes, menés principalement sur *Ch. carnea* (Mc LEOD, 1967 ; TAUBER et TAUBER, 1969, 1970 ; TAUBER et coll., 1970 *a* et *b*) mettent tous l'accent sur l'importance du facteur photopériode. *Chrysopa oculata* SAY est la seule espèce hivernant à l'état de prénymphe dans le cocon qui ait été étudiée expérimentalement à ce sujet (PROPP et coll., 1969) ; elle est, elle aussi, sensible à la photopériode pour l'induction de sa diapause. *Ch. perla* qui a un mode de développement du même type que *Ch. oculata* donne toutefois une réponse beaucoup moins nette ; certes, elle entre massivement en diapause en fin d'été, lorsque la photopériode est moyenne ou courte ; mais, le taux considérable de diapause que l'on enregistre en fin de printemps implique qu'un autre facteur, tel que la malnutrition par exemple, puisse se superposer et emporter la décision. L'élimination de la diapause est également d'origine photopériodique chez *Ch. oculata*. Si pour *Ch. perla* la simultanéité des émergences peut faire penser à une réactivation photopériodique, elle peut tout autant être due à une synchronisation dans le déroulement de cette diapause suivant le processus classique de l'homogénéisation des populations hivernantes connu chez nombre d'insectes (JOURDHEUIL et MISSONNIER, 1964). Enfin, on peut constater que *Ch. perla* a une contrainte de temps de diapause de 5 mois environ, c'est-à-dire beaucoup plus importante que celle de 4 semaines observée par les mêmes auteurs chez *Ch. oculata*. De plus, il n'est pas interdit de penser que dans des conditions de conservation des cocons plus adéquates, notamment pour ce qui est de l'humidité relative, certaines prénymphes à évolution différée puissent donner des imagos lors de la deuxième année. Dans ce cas, la diapause de *Ch. perla* serait d'une longueur et d'une intensité inhabituelles chez les *Chrysopidae* chez lesquels les diapauses bisannuelles ne semblent pas avoir été signalées.

Les émergences printanières sont très étalées dans le temps. La sortie plus précoce des mâles peut expliquer les déséquilibres des sexes que l'on observe parfois (VANNIER, 1961) chez cette espèce à sex-ratio globale voisine de 0,5. De plus, la durée du vol de printemps, jointe à une longévité imaginale assez grande et à un développement larvaire court, entraîne un complet chevauchement des générations au cours de l'année. Cette continuité dans la présence de femelles pondeuses ainsi que la grande dispersion des œufs de cette espèce sont des éléments parfois particulièrement favorables dans la lutte antiaphidienne. Et *Ch. perla* peut se situer parmi les prédateurs à action discrète et constante, plutôt que massive.

Reçu pour publication en juillet 1972.

SUMMARY

VOLTINISM, DIAPAUSE AND SEX-RATIO OF *CHRYSOPA PERLA* IN THE SOUTH WEST OF FRANCE

The common green lacewing *Chrysopa perla* (L.) is polyvoltin in the South West of France. There are a first brood during spring, two during summer ; a few of adults produces a small one in fall. In late spring, 75 p. 100 of prepupae within cocoon directly diapause ; in the second brood : 52 p. 100 and in the third : 99 p. 100. Imagines appear in May simultaneously for the whole

overwintering population, but emergences are distributed on a long time : 9 weeks. Mortality is 21 p. 100 in diapause, then 14 p. 100 while they change to pupae and go out. A large part of prepupae (19 p. 100) does not break out diapause and dies gradually, without bringing to close a two-year cycle. Sex-ratio changes with the generation (summer-broods = 0,54 ; spring-brood = 0,44). In spring, the more fast emergence of males induces a large temporary excess of those.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ASPÖCK H., ASPÖCK U., 1964. Synopsis der Systematik, Ökologie und Biogeographie der Neuropteren Mitteleuropas im Spiegel der Neuropteren-fauna von Linz und Oberösterreich, sowie Bestimmungsschlüssel für die mitteleuropäischen Neuropteren. *Naturkundl. Jahrb. d. Stadt Linz 1964*, 127-282.

ASPÖCK H., ASPÖCK U., 1969. Die Neuropteren Mitteleuropas. *Naturkundl. Jahrb. d. Stadt Linz 1969*, 17-70.

HAGEN K S., VAN DEN BOSCH R., 1968. Impact of pathogens, parasites and predators on aphids. *Annu. Rev. Ent.*, **13**, 325-384.

JOURDHEUIL P., MISSONNIER J., 1964. Remarques sur quelques phénomènes de régulation du cycle saisonnier des insectes. *Rev. gén. Sci.*, **71**, 25-37.

KILLINGTON F. J., 1937. *A monograph of the British Neuroptera*. Roy Society, London, **2**, 1-306.

LACROIX J. L., 1921. Étude sur les Chrysopes (premier mémoire). *Ann. Soc. linn. Lyon*, **68**, 51-104.

MC LEOD E. G., 1967. Experimental induction and elimination of adult diapause and autumnal coloration in *Chrysopa carnea* (*Neuroptera*). *J. Ins. Physiol.*, **13**, 1343-1350.

PROPP G. D., TAUBER M. J., TAUBER C. A., 1969. Diapause in the neuropteran *Chrysopa oculata*. *J. Ins. Physiol.*, **15**, 1749-1757.

TAUBER M. J., TAUBER C. A., 1969. Diapause in *Chrysopa carnea* (*Neuroptera, Chrysopidae*). I. Effect of photoperiod on reproductively active adults. *Can. Ent.*, **101**, 364-370.

TAUBER M. J., TAUBER C. A., 1970. Adult diapause in *Chrysopa carnea* : stages sentitive to photoperiodic induction. *J. Ins. Physiol.*, **16**, 2075-2080.

TAUBER M. J., TAUBER C. A., DENYS C. J., 1970 *a*- Diapause in *Chrysopa carnea* (*Neuroptera, Chrysopidae*). II. Maintenance by photoperiod. *Can. Ent.*, **102**, 474-478.

TAUBER M. J., TAUBER C. A., DENYS C. J., 1970 *b*. Adult diapause in *Chrysopa carnea* : photoperiodic control of duration and colour. *J. Ins. Physiol.*, **16**, 949-955.

VANNIER G., 1961. Observations sur la biologie de quelques Chrysopides (Névroptères, Planipennes). *Bull. Mus. nat. Hist. nat.*, **33**, 396-405.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 39-44.

INFLUENCE D'UNE SEULE ADMINISTRATION DE LEVURE HYDROLYSÉE SUR LA FÉCONDITÉ DES FEMELLES DE *DACUS OLEAE* GMEL. (DIPT. *TRYPETIDAE*)

E. FYTIZAS

Institut Phytopathologique Benaki,
Kiphissia Athènes (Grèce)

RÉSUMÉ

Après l'épuisement des réserves nutritives larvaires, des *Dacus* femelles reçurent, pendant un jour, une quantité de levure hydrolysée de l'ordre de 0,1 mg. Cette administration unique réactiva la reproduction ; pendant 12 ou 14 jours, les ovaires fonctionnèrent de nouveau et une centaine d'œufs fut formée. La formation et l'accumulation du vitellus commencèrent à peine 2 jours après l'administration de la levure ; la ponte des premiers œufs formés se manifesta après le 4e jour.

L'expérience ne donne pas d'informations sur la ou les substances chimiques ayant provoqué la réactivation de l'ovogenèse, car la levure administrée contenait aussi bien des substances peptidiques que des vitamines.

INTRODUCTION

Le rôle prépondérant des protéines et des vitamines pendant la vitellogenèse chez les Diptères a été mis en évidence par de nombreux travaux (voir TELFER, 1965), (ENGELMANN 1970, etc...).

L'absence de protéines et de vitamines dans la nourriture des adultes provoque l'inhibition totale ou presque de la production des œufs et de la ponte. Chez les espèces considérées comme strictement ou facultativement autogènes (ENGELMANN, 1970), les femelles nourries exclusivement aux glucides arrivent à former et à pondre un certain nombre d'œufs : les adultes utilisent alors une certaine quantité de protéines et de vitamines accumulées dans les cellules du tissu adipeux larvaire ; la carence en protéines et vitamines ne manifesterait son effet qu'après l'épuisement des réserves larvaires.

Chez les adultes de *D. oleae*, le tissu adipeux larvaire se désorganise et disparaît entre le 6e et 7e jour suivant la sortie imaginale, c'est-à-dire au moment où un grand nombre d'oocytes sont en vitellogenèse et des œufs formés. Lorsque les adultes sont nourris exclusivement au sucre, un certain nombre d'œufs est pondu entre le 8e et le 25e jour, puis la vitellogenèse s'arrête et la production d'œufs (œufs pondus et œufs restant dans les ovaires) devient insignifiante (FYTIZAS et BACOYANNIS, 1968) ; l'épuisement des réserves nutritives larvaires chez cette *Trypetidae* pourrait donc se situer après le 25e jour.

Bien que les exigences nutritives pour la fécondité soient multiples, HAGEN prouva qu'une levure hydrolysée, additionnée de sucre et d'eau, suffisait largement pour une bonne production d'œufs, aussi bien dans les cas de *D. oleae* (HAGEN, 1963), que dans celui d'autres *Trypetidae* (HAGEN, 1958) ; la levure hydrolysée remplacerait, en quelque sorte, efficacement les mélanges des vitamines, acides aminés, stérols et sels minéraux.

Le but du présent travail est l'étude de l'influence d'une seule administration d'une levure hydrolysée, utilisée déjà par HAGEN, sur la fécondité de Dacus adultes ayant épuisé leurs réserves larvaires et la durée de la vitellogenèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La levure hydrolysée enzymatiquement, utilisée au cours de cette expérience (1), est caractérisée par sa teneur élevée en acides aminés libres, parmi lesquels ceux reconnus par FRIEND (1958) et HOUSE (1961) comme essentiels pour les insectes. De plus cette levure contient les vitamines hydrosolubles (à l'exception de la biotine et des cyanocabalamines) et des sels minéraux composés de Ca, Mg, Fe, Cl, K, P, et S.

Les insectes provenaient d'une population naturelle, représentant la deuxième génération, élevée en laboratoire sur les olives.

Au total 40 cages furent utilisées, contenant 30 couples chacune. Pendant toute l'expérience, les insectes ont reçu comme nourriture du sucre et de l'eau, sauf pour les insectes de 20 cages, qui reçurent le 30e jour seulement un mélange de levure hydrolysée, de sucre et d'eau, dans la proportion de 1 : 4 : 5.

Du 8e jour et jusqu'à la fin de l'expérience, des olives ont été placées quotidiennement dans les cages pour le contrôle de la ponte journalière ; celle-ci est évaluée par la moyenne des œufs pondus par jour et par femelle vivante. Vingt-quatre heures avant l'administration de la levure hydrolysée et pendant les 22 jours suivants, des lots de 15 femelles ont été disséqués chaque jour et les ovaires examinés au microscope stéréoscopique pour le dénombrement des oocytes en vitellogenèse et des œufs restant dans des ovaires.

La température, l'humidité relative et l'intensité lumineuse étaient respectivement de 21° à 23°C, 48 à 69 p. 100 et 1 000 à 1 200 Lux (pour une photopériode de 12 heures).

RÉSULTATS

Des graphiques 1 et 2 on peut tirer les enseignements suivants :

1. Dès le 8e jour après la ponte, les femelles, nourries au sucre, purent pondre une quarantaine d'œufs (fig. 1).

2. Entre le 26e et le 30e jour, la ponte atteint un niveau très bas, oscillant entre 0,2 et 0,6 œufs par femelle vivante (fig. 1.).

(1) N. B. C. ; Ohio-Cleveland.

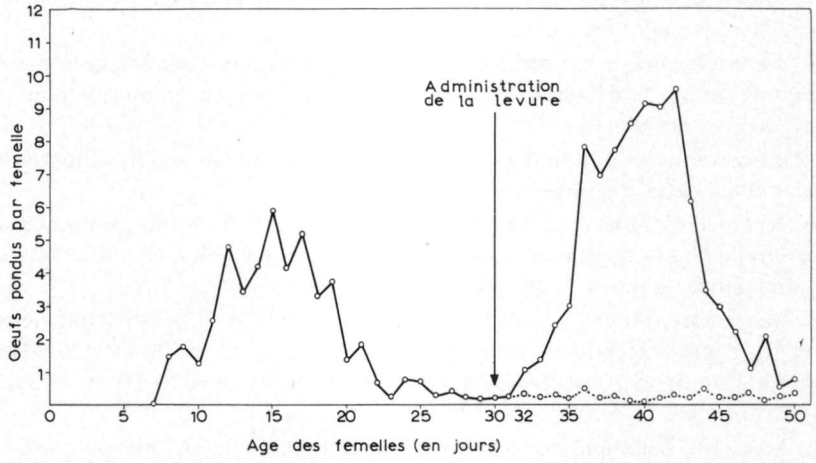


FIG. 1. — *Ponte des femelles avant et après l'administration unique de levure hydrolysée*

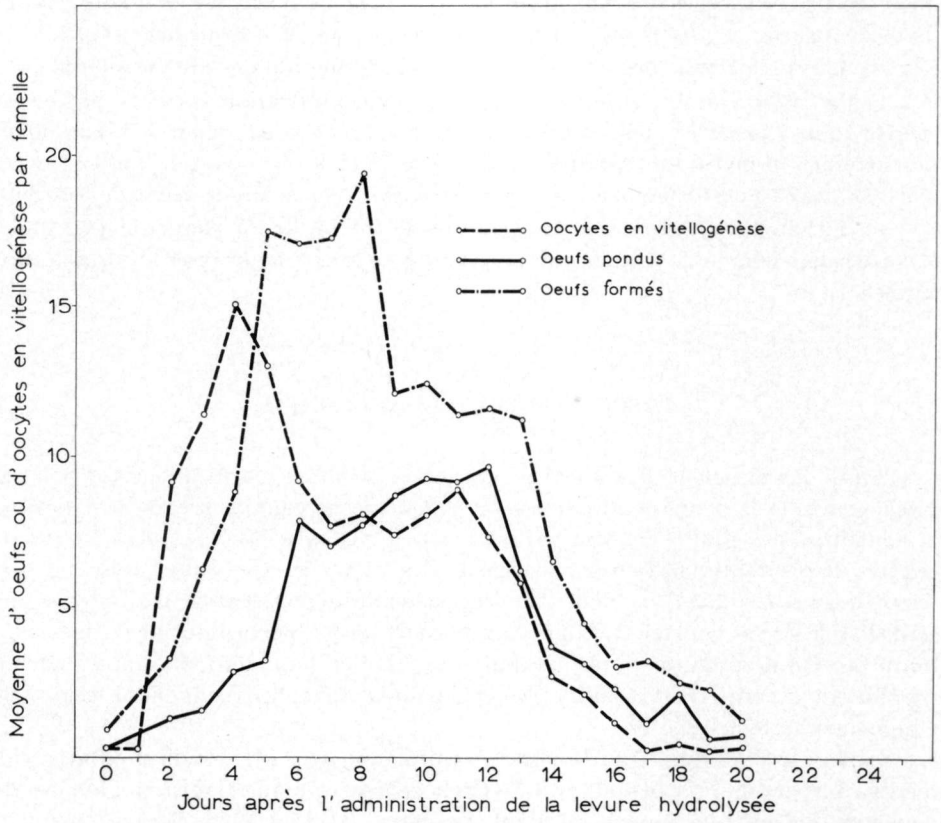


FIG. 2. — *Évolution de l'ovogenèse et de la ponte après l'administration unique de levure hydrolysée*

3. Le jour de l'administration de la levure hydrolysée (30e jour), la moyenne des œufs trouvés dans les ovaires est de 0,4 et celle des oocytes en vitellogenèse de 0,2 par femelle examinée (fig. 2).

4. La vitellogenèse, la production et la ponte des œufs, chez les insectes qui n'ont pas reçu de levure hydrolysée, restent aux mêmes niveaux qu'au 30e jour pendant le reste de l'expérience (fig. 1.)

5. Chez les insectes, ayant reçu la levure hydrolysée, les ovaires fonctionnent de nouveau et un certain nombre d'œufs est pondu.

6. Entre le 1er et le 2e jour après l'administration de la levure, le nombre d'oocytes en vitellogenèse augmente subitement, la vitellogenèse s'accroît, atteignant son maximum entre le 3e et le 5e jour (fig. 2).

7. Le nombre d'œufs formés (trouvés dans les ovaires et pondus) augmente entre le 3e et le 4e jour, atteignant son maximum entre le 5e et le 8e jour (fig. 2) et la fin du maximum (5e jour) des oocytes en vitellogenèse coïncide avec le début du maximum des œufs formés.

8. La ponte commence à devenir importante après le 5e jour, au moment où le nombre d'œufs formés est très élevé (fig. 2).

9. Les trois courbes se stabilisent par la suite : celle des oocytes en vitellogenèse du 6e au 12e jour, celles des œufs formés du 9e au 13e jour et celle des œufs pondus du 6e au 12e (fig. 2), après quoi les trois courbes déclinent brusquement (fig. 2.).

10. La vitellogenèse précède de deux jours la formation des premiers œufs.

11. Le rythme de la ponte ne suit pas celui de la production des œufs : entre le 4e et le 8e jour, à peine le 1/3 des œufs formés est pondu. Lorsque la courbe de la production atteint son niveau de stabilisation (entre le 9e et le 13e jour), le rapport entre œufs pondus et œufs formés passe au 3/4 et arrive au 4/5 pendant le déclin des courbes.

12. La vitellogenèse paraît s'arrêter après le 15e ou le 16e jour, qui peut donc être considéré comme le moment où la quantité de levure hydrolysée absorbée serait épuisée.

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS

Après l'épuisement des réserves nutritives larvaires et jusqu'au 50e jour, la vitellogenèse et la ponte oscillent peu, atteignant un niveau très près de zéro, lorsque la nourriture des adultes ne contient que du sucre. D'après Moore (1960), des gouttelettes de jus d'olive sortant sur la surface des fruits peu après que l'oviscapte soit ressorti, constitueraient une nourriture supplémentaire pour les Dacus adultes. Pourtant, le rôle de ces gouttelettes dans la reproduction ou bien serait nul ou bien très limité ; cette nourriture supplémentaire empêcherait l'annulation complète de la reproduction, permettant la formation et la ponte d'un œuf par jour chez le tiers ou le cinquième des femelles.

La levure hydrolysée, au contraire, semble apporter un certain nombre d'éléments constructifs indispensables à la vitellogenèse et permet ainsi aux ovaires de demeurer encore fonctionnels pendant 15 jours, pendant cette période en effet, plus de 50 œufs ont été formés et pondus. Des observations antérieures nous avaient

permis d'estimer la quantité moyenne de nourriture quotidiennement absorbée par *D. oleae* adulte à 1 mg environ ; la concentration de la levure administrée au cours de nos essais étant de 10 p. 100, on peut évaluer la quantité de levure hydrolysée ingérée le 30e jour par chaque femelle à 1 µg. Cette quantité a été suffisante pour assurer la formation et la ponte du dixième ou du douzième de la fécondité totale moyenne d'une femelle nourrie quotidiennement de sucre et de levure hydrolysée pendant toute son existence.

Les subtances chimiques exigées pour la vitellogenèse sont multiples (FRIEND, 1958 ; HOUSE, 1961) ; la levure hydrolysée que nous avons utilisée satisferait toutes ces exigences, aussi bien en ce qui concerne les éléments indispensables pour la constitution des gouttelettes de vitellus, que les subtances jouant un rôle régulateur pendant la formation et l'accumulation du vitellus, mais on ne sait pas très bien auxquelles de ces substances on doit la réactivation de la vitellogenèse et de la ponte.

Notre expérimentation ne permet pas, en effet, de tirer des conclusions sur les subtances contenues dans la levure et sur leur rôle de réactivants de la reproduction, et il serait intéressant d'examiner séparement les substances peptidiques et les vitamines pout déterminer leur rôle sur la reproduction après l'épuisement des réserves larvaires.

Reçu pour publication en juillet 1972.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement le Dr Y. ARAMBOURG de ses suggestions précieuses et des corrections apportées au manuscrit.

SUMMARY

INFLUENCE OF A SINGLE SUPPLY OF DIET WITH YEAST HYDROLYSATE ON THE FECUNDITY OF *DACUS OLEAE* GMEL

After an exhaustion of the nutritive larval reserves in the adults, the females of *Dacus oleae* were fed for lenght of one day on a quantity of 0,1 mg of yeast hydrolysate.

This single supply of diet caused a recovery of the reproduction for a period of 12 to 14 days : the ovaries fonctioned *de-novo* with a formation of 100 eggs.

The formation and the deposition of the yolk started 2 days after the administration of yeast and the oviposition of the first newly formed eggs occurred on the forth day.

The experiment has not provided any data on the chemical substances that caused the recovery of ovogenesis for the provided yeast contained peptides, as well as vitamines.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ENGELMANN F., 1970. *The Physiology of Insect Reproduction.* Pergammon Press.

FRIEND W. G., 1958. Nutritionnal Requirements of Phytophagous Insects. *Ann. Rev. Entomol.*, **3**, 57-74.

FYTIZAS E., BACOYANNIS A., 1968. Action de la Réserpine sur l'oviposition de *Dacus oleae* GMEL. *Ann. Epiphyties*, **19** (4), 623-628.

HAGEN K. S., 1958. Honeydew as an Adult Fruit Fly Diet Affecting Reproduction. *Proc. Intern. Congr. Entomol.* Montréal 1956, **3**, 25-30.

HAGEN K. S., SANTAS L., TSECOURAS A., 1963. A technique of culturing the olive Fly *Dacus oleae* GMEL. on synthetic media under xenic conditions in : Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance. *Proc. Symp. Athens*, 22-26 April 1963, I. A. E. A., Vienna, 333-356.

HOUSE H. L., 1961. Insect Nutrition. *Ann. Rev. Entomol.*, **6**, 13-26.

MOORE I., 1960. A Contribution to the Ecology of the Olive Fly *Dacus oleae* GMEL. (Ph. D. Thesis). Ministry of Agriculture. Institute of Plant Protection Division of Fruit Tree Entomology Beit-Dagan, Israël. Special Bulletin 26, mimio pp. 59 (En hébreu, résumé en anglais).

TELFER W. H., 1965. The Mechanism and Control of Yolk Formation. *Ann. Rev. Entomol.*, **10**, 161-184.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 45-67.

ÉCOLOGIE DE L'APION DE L'ARTICHAUT *APION CARDUORUM* VAR. *GALACTITIS* WENCK. SUR LE LITTORAL MÉDITERRANÉEN

Madeleine BERTRAN PRALAVORIO et P. JOURDHEUIL
avec la collaboration technique de P. MILLOT

Station de Zoologie et de Lutte Biologique,
Centre de Recherches I. N. R. A.,
06602 Antibes

RÉSUMÉ

A. carduorum var. *galactitis* WENCK. est particulièrement nuisible aux cultures d'Artichaut dans les régions méridionales de la France.

Au cours de cette étude réalisée dans le Var et les Alpes-Maritimes, les auteurs ont cherché à préciser certains caractères écologiques susceptibles de permettre la mise au point d'une méthode de lutte efficace : influence du climat, de la plante-hôte, des ennemis naturels sur le cycle biologique et la dynamique des populations, ainsi que sur les conditions d'apparition des dégâts.

INTRODUCTION

L'apion de l'Artichaut, *Apion* (*Ceratapion*) *carduorum* KIRBY a une aire de répartition extrêmement vaste puisqu'elle s'étend depuis l'Europe moyenne et tempérée jusqu'à l'Asie et même l'Afrique du Nord (PEYERIMHOFF, 1911). Cet insecte y a été observé sur diverses Compositées Cynarocéphales telles que *Carduus acanthoides* L., *Carduus nutans* L., *Cirsium arvense* L., *C. oleraceum* SCOP., *C. palustre* SCOP., *C. lanceolatum* SCOP., *Lappa communis* L. et surtout l'Artichaut cultivé *Cynara scolymus* L. et le Cardon *C. cardunculus* L.

C'est essentiellement dans l'aire méridionale d'*A. carduorum* que des dégâts ont été signalés sur cultures d'Artichauts. En France, des attaques ont été remarquées d'abord dans les Charentes et le Bordelais (BAILLARGE, 1924 ; BRUNETEAU, 1936), mais c'est surtout dans les Pyrénées Orientales et le Var que cet insecte est très nuisible aux cultures (BALACHOWSKY, 1938) ainsi qu'au Maroc (ARTIGALA, 1936), en Italie jusque dans la province de Naples (RUSSO, 1939 ; MELIS, 1941), en Grèce (AYOUTANTIS in HOFFMANN, 1958) et en Espagne.

Dans ces régions prédominent d'ailleurs deux sous-espèces : d'une part, *Apion* (*Ceratapion*) *galactitis* WENCK. primitivement signalée par WENCKER (1858) sur *Galactites tomentosus* MOENCH, puis retrouvée en Algérie sur *Carduus pycnocephalus* L. (PEYERIMHOFF, 1920) ainsi que dans le Var sur *Cynara scolymus* L. (BALACHOWSKY, 1938) ;

FIG. 1. — A. *Apion carduorum*, femelle adulte
B. Ponte déposée sous la face supérieure de la nervure principale d'une feuille.
(Clichés I. N. R. A, Zoologie. Antibes)

d'autre part *Apion* (*Ceratapion*) *damryi* DESBR. qui semble plus étroitement inféodé à l'Artichaut. Sur la Côte d'Azur, en Provence, ainsi qu'en Corse, *C. galactitis* constitue l'essentiel des populations ; la deuxième sous-espèce n'est pas signalée par CAILLOL (1954) et y est considérée comme rare par HOFFMAN (1958, 1963) alors qu'en Italie *C. damryi* est seul cité comme nuisible à l'Artichaut (RUSSO, 1939 ; MELIS, 1941).

Sur l'ensemble de la Côte d'Azur, et notamment dans le Var, où sont annuellement cultivés plus de 1 200 ha d'Artichauts *A. carduorum* est actuellement considéré comme l'ennemi principal de cette plante. Ses pullulations, qui sont très irrégulières d'une année à l'autre, ainsi que le signalait BALACHOWSKY dès 1938, sont particulièrement redoutées des horticulteurs du fait que de faibles niveaux de populations peuvent, du moins sur certaines variétés, entraîner des pertes importantes de capitules. Afin de pouvoir définir une méthode de lutte efficace, il nous a paru utile d'entreprendre une étude précise de la dynamique des populations de cet insecte ainsi que des conditions d'apparition des dégâts.

A. — MATÉRIEL ET MÉTHODES D'ÉTUDES

De 1967 à 1969, l'essentiel des observations a été réalisé dans l'une des principales zones méridionales françaises de production, c'est-à-dire la région d'Hyères, et plus spécialement le lycée agricole et horticole.

Sur la zone littorale particulièrement favorable à cette plante, notamment en raison de l'absence de gels prononcés, deux variétés sont actuellement cultivées : le « Violet » qui occupe les 3/4 des plantations et le « Blanc hyérois » appelé communément « Macau » dans la région. Alors que la culture de cette dernière variété a plutôt un caractère pluriannuel, celle du « Violet » est habituellement renouvelée tous les ans. Dans les deux cas, la plantation a lieu en juin, juillet et août, généralement à partir d'œilletons prélevés en février-mars sur les pieds-mères et racinés ensuite en pépinières.

Quelle que soit sa date de mise en place, le « Blanc hyérois » (400 ha) ne donne qu'une récolte par an, au printemps. Il en est de même du « Violet de printemps » qui couvre environ 750 ha. Par contre les plants qui sont mis en terre plus précocement, c'est-à-dire fin juin, début juillet, fructifient dès l'automne, puis au printemps suivant : c'est le « Violet d'automne » dont l'importance est très réduite (50 ha).

L'évolution végétative est évidemment très différente dans les trois cas. Le « Blanc » et le « Violet de printemps » se développent de manière presque identique jusqu'à la mise à fruit. L'œilleton planté l'été produit au cours de l'automne et de l'hiver une couronne de feuilles basales qui sont insérées alternativement selon une spirale très serrée. Les feuilles les plus jeunes apparaissent autour du bourgeon central et forment le « cœur » ; elles s'accroissent ensuite progressivement vers l'extérieur pour atteindre finalement une longueur de 40 à 50 cm ou même davantage. Pendant toute la mauvaise saison, le rythme de formation des feuilles est sensiblement constant : 5 à 7 mensuellement. Simultanément les feuilles les plus âgées se flétrissent et disparaissent à raison de 2 à 4 par mois. Cette croissance végétative continue se poursuit jusqu'au début du mois d'avril pour le « Blanc », se termine vers la fin février pour le « Violet ».

Il se forme, dès cette époque, un capitule sur la première hampe florale. A l'aisselle des feuilles portées par celles-ci apparaissent ensuite des fructifications secondaires. La récolte porte en moyenne sur 6 à 8 capitules par pied.

Le « Blanc » qui fructifie beaucoup plus tardivement, mais selon le même schéma, a une production de l'ordre de 3 à 5 capitules par pied.

Le « Violet d'automne » possède déjà à la fin de l'été une couronne de 18 à 20 feuilles basales et émet, d'octobre à décembre, environ 2 à 4 capitules par pied. La récolte est en général stoppée par les premiers gels et, tandis que le pied principal qui a fructifié se dessèche et meurt, apparaissent à sa base plusieurs œilletons de remplacement. L'opération dite d' « œilletonnage », pratiquée en février, ne laisse subsister qu'un seul de ces organes, le plus beau qui commencera à fructifier en avril-mai, c'est-à-dire plus tardivement que le « Violet de printemps » (fig. 7).

Au cours de la première année d'observation, nous avons disposé de 6 parcelles contigües identiques, plantées en « Violet de printemps » (2 parcelles), « Violet d'automne » (2 parcelles),

« Blanc » (2 parcelles). Les observations effectuées périodiquement, tous les 15 ou 30 jours selon la saison, n'ont pas pu être poursuivies suivant le même protocole les années suivantes par suite d'inondations. Nous avons alors reporté nos observations sur 3 parcelles peu éloignées et d'inégale importance représentant chacune un type de culture.

Ces modifications n'ont pratiquement pas entraîné de changements dans les méthodes d'études. En ce qui concerne les adultes, le niveau de population a été établi par observation visuelle sur 50 pieds dans chaque type de culture. Corrélativement une vingtaine d'insectes étaient prélevés hors essai et disséqués afin de vérifier la maturation des gonades et la présence de parasites.

L'étude de l'évolution des populations aux différents stades immatures a posé par contre d'autres problèmes compte tenu que ceux-ci ne peuvent être observés que par dissection des organes jeunes du végétal. Étant donné que les plantations sur lesquelles avait lieu nos observations étaient destinées à la production, l'échantillonnage a été évidemment limité.

Dans un premier temps, les populations embryonnaires ont pu être suivies par le prélèvement de feuilles de trois âges (10 jeunes, 10 moyennes, 10 âgées par type de culture), les pontes étant déposées dans ces organes ; ces prélèvements trop fractionnaires ont dû être abandonnés et, par la suite, la population des différents stades pré-imaginaux a été dénombrée en son entier sur 2 pieds par type de culture lors de chaque prélèvement. Ce nombre, très réduit par suite du préjudice causé à la culture et des difficultés inhérentes au dépouillement, nous a seulement permis de suivre l'échelonnement des différentes populations dans le temps au cours de l'hiver (fig. 7).

Par contre, au moment de la sortie de la nouvelle génération, la récolte étant sur le point d'être achevée, un nombre plus important de pieds a été prélevé et placé en éclosoir, ce qui a permis de préciser l'importance numérique de la population immature et de ses divers parasites.

Des observations plus fragmentaires, destinées principalement à mettre en évidence un décalage éventuel du cycle, ont également été effectuées dans les Alpes-Maritimes (Station de Zoologie d'Antibes, plantations de Cagnes et de Grasse) ainsi que dans les Pyrénés-Orientales et le Bordelais.

B. — DYNAMIQUE DES POPULATIONS ET CYCLE ÉVOLUTIF

1. — *La vie imaginale*

A Hyères, la sortie des adultes a lieu, suivant les années, entre la fin du mois d'avril et la fin du mois de mai. La nymphose s'effectue dans une logette qui, selon la variété végétale, se situe soit dans la hampe florale, soit dans la nervure principale des feuilles. Pour sortir, les jeunes imagos perforent les tissus végétaux.

Pendant quelques semaines, ils s'alimentent intensément aux dépens du parenchyme foliaire et constituent alors d'abondantes réserves adipeuses, mais il n'y a aucun développement des gonades dans les deux sexes. Souvent ces insectes se localisent à l'extrémité de la nervure principale : le limbe de la feuille y forme des replis, soit naturellement, soit du fait de la présence de fourreaux larvaires de la Teigne de l'Artichaut, *Depressaria subpropinquella*, ravageur assez commun à cette époque de l'année.

Fin mai, début juin, la totalité des adultes a quitté la culture. Selon MELIS (1941), ils se réfugient alors à proximité des plantations, dans les roseaux, sous les feuilles mortes, dans les fentes des écorces. Il ne nous a pas été possible de confirmer ces observations.

Au laboratoire, les caractères de l'estivation ont été étudiés de la façon suivante : des imagos obtenus en éclosoir le 20 mai, ont été mis en élevage dans les conditions naturelles ainsi que dans diverses conditions expérimentales : 20°C, 8 heures d'éclairement journalier ; 20°C et 12 heures ; 20°C et 16 heures ; 12°C et 8 heures ; 12°C et 16 heures. Dans ces différents milieux étaient placés un élevage collectif de 200 individus ainsi qu'un élevage restreint de 15 individus (10 femelles et 5 mâles) dont

l'effectif était maintenu constant. Ce dernier lot servait au contrôle de l'alimentation et de la ponte sur des végétaux verts renouvelés périodiquement. L'état de maturation des gonades était suivi chaque quinzaine par prélèvement d'une dizaine d'individus de chaque sexe dans l'élevage collectif. On distinguait d'une part les femelles dont les ovaires contenaient uniquement des ovocytes en cours de vitellogenèse (V) et d'autre part celles possédant, soit des ovocytes ayant atteint la taille maximum, soit des œufs prêts à être émis (tabl. 1).

Dans tous les cas, nous avons constaté l'existence d'une diapause imaginale caractérisée par un ralentissement notable, voire même un arrêt temporaire de l'alimentation et de la maturation sexuelle.

La prise de nourriture est très importante durant la dernière décade de mai et la première quinzaine de juin. Par la suite, dans les élevages maintenus, soit à l'extérieur, soit au laboratoire à 12 et 16 heures d'éclairement, il y a une diminution rapide de l'activité locomotrice et du nombre des morsures. Par contre, à 8 heures d'éclairement, l'alimentation bien que sensiblement réduite se maintient à un niveau relativement important et constant jusqu'à la ponte.

Quelles que soient les conditions, on note une différence notable en fonction du sexe dans la vitesse d'évolution des gonades ; la spermatogénèse, quoique lente, est nettement moins inhibée que l'ovogenèse par l'état de diapause et la maturité sexuelle des mâles est acquise dans les différents lots, généralement dès le mois de juillet. Les délais de maturation des femelles sont, par contre, nettement plus longs et présentent de notables différences en fonction de la température et de la photopériode ainsi qu'en témoigne le tableau suivant :

TABLEAU I

Évaluation au cours de l'été et de l'automne du pourcentage de femelles en vitellogenèse (V) *ou ayant atteint la maturation sexuelle* (M) *en fonction des diverses conditions d'élevage*

Conditions d'élevages	Dates de contrôle						
	1 - 15-7 (p. 100)	16 - 31-7 (p. 100)	1 - 15-8 (p. 100)	16 - 31-8 (p. 100)	1 - 15-9 (p. 100)	16 - 30-9 (p. 100)	1 - 15-10 (p. 100)
12° - 8 h	0	0	50 V	94 M	—	—	—
12° - 16 h	0	0	0	0	0	10 M	25 M
20° - 8 h	30 V 5 M	30 V 55 M	13 V 87 M	—	—	—	—
20° - 12 h	0	0	30 V 50 M	9 V 91 M	—	—	—
20° - 16 h	0	0	0	0	9	0	20 V
Conditions naturelles	0	0	0	28 V	13 V 13 M	20 V 80 M	—

Les délais les plus courts pour la maturation sexuelle ont été observés à 20°C sous une photopériode de 8 heures. Ce même éclairement conjugué à une température de 12°C provoque un allongement des délais de ponte de l'ordre de 30 jours (90 jours au lieu de 60 depuis la mue imaginale). Mais l'action inhibitrice la plus nette est constatée aux longues photopériodes : à 20° C/12 heures, les résultats sont sensiblement identiques à ceux de 12°C/8 heures alors qu'à 20°C/16 heures, aucune femelle n'a encore atteint la maturité sexuelle à la mi-octobre, soit 5 mois après la ponte.

L'évolution de la photopériode naturelle a certainement un rôle déterminant dans la chronologie de la reprise d'activité imaginale. Il est possible de noter une recolonisation de certaines cultures par des individus mâles et femelles mûrs dès le mois de septembre, mais ceux-ci sont très peu nombreux et se situent uniquement en bordure des champs. En fait la réinfestation a lieu en règle générale sensiblement plus tard (octobre, novembre) avec toutefois de notables variations selon les lieux et surtout les années. Alors qu'en 1968, à Hyères (Var) un nombre important d'individus était observé sur les nouvelles plantations dès octobre, celui-ci était pratiquement nul en 1967 jusqu'au mois de novembre (fig. 2).

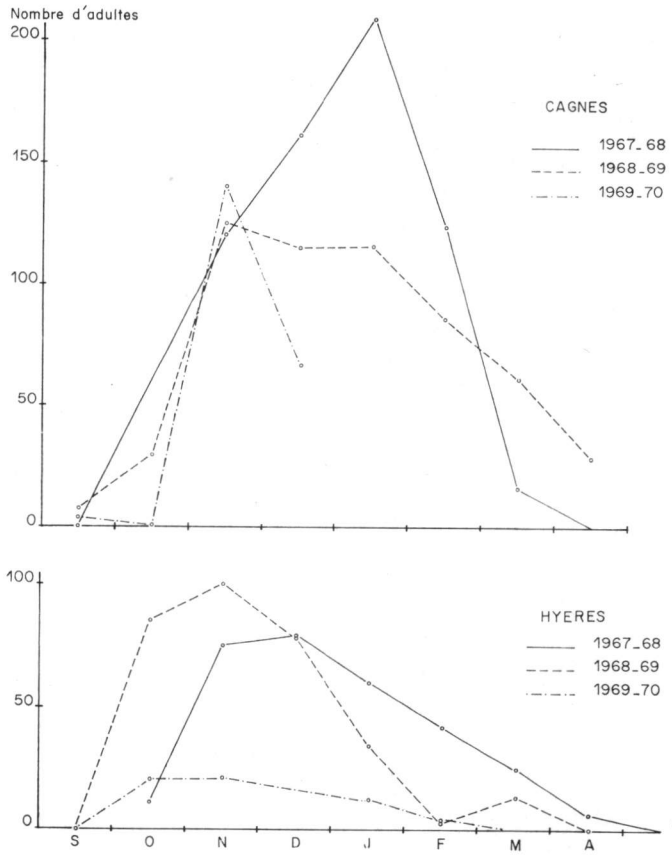


FIG. 2.—*Population imaginale dénombrée sur* 100 *pieds d'Artichauts dans deux champs de « Violet » situés dans le Var et dans les Alpes-Maritimes, au cours de trois années successives*

En première analyse, on peut attribuer ces variations au régime des précipitations fort capricieux à l'automne. Aucune preuve n'a pu cependant être apportée pour confirmer cette hypothèse. Quoi qu'il en soit, la reprise d'activité est néanmoins étalée sur plusieurs mois en règle générale. Durant ce temps, la réinfestation n'est pas continue et régulière mais peut se faire par à-coups successifs et parfois spectaculaires pour l'observateur : c'est ainsi qu'en 1967, dans une plantation de Saint-Paul-de-Vence la population imaginale est passée, entre le 16 et le 19 octobre de 76 à 514 apions pour 100 plants d'Artichauts ; le mois suivant, malgré un traitement insecticide qui le 22-10 avait éliminé la quasi-totalité des individus, le niveau de population était remonté à 709 insectes pour 100 pieds.

A partir du mois de décembre, en règle générale, la population commence à décroître régulièrement pour devenir nulle à la fin du mois de mars ou au début du mois d'avril, mais la mortalité n'intervient pas simultanément pour les deux sexes. En fait, les individus mâles disparaissent en totalité à l'automne et ce sont seulement des femelles qui hivernent. Dans le cas précédemment évoqué, les mâles représentaient respectivement 49 p. 100 de la population le 19 octobre contre 3 p. 100 le 23 novembre. Pour l'ensemble des cultures suivies, tant à Cagnes qu'à Hyères, le pourcentage était déjà réduit à 10 en octobre et novembre et tombait à 0 en décembre.

En d'autres termes, l'enregistrement du niveau de la population ne donne qu'une estimation partielle de l'étalement et de l'importance de la réinfestation puisque, dès le début de l'automne, l'arrivée de nouveaux individus, en majorité femelles, est en partie compensée par la disparition rapide des mâles. Compte tenu de cette interaction, si l'on en juge par l'évolution numérique de la densité de population enregistrée à Hyères en 1967 sur 100 pieds d'Artichauts soit respectivement 11 individus en octobre, 74 en novembre et 79 en décembre, il n'est pas interdit de penser que la recolonisation s'est poursuivie jusqu'aux grands froids, c'est-à-dire fin décembre, ce qui confirme d'ailleurs la présence d'un pourcentage non négligeable de femelles totalement immatures (5 p. 100) le 5 décembre 1967 et le 16 janvier 1969 à Hyères. Les estimations de populations et l'étude des gonades n'ont pas permis d'établir que de nouvelles sorties de diapause avaient lieu en hiver et au printemps dans cette région.

2. — *La reproduction*

Les femelles déposent leurs œufs dans les tissus végétaux à une profondeur de 1 à 2 mm (fig. 1B). Ceux-ci sont répartis tout au long du pétiole et de la nervure principale (90 p. 100 des pontes) ainsi que sur les nervures secondaires, soit à leur face supérieure, soit à leur face inférieure. La ponte a lieu uniquement dans les feuilles moyennes du verticille situé à la base de la plante ; celles-ci sont au nombre de 5 à 6 par pied. Les feuilles plus âgées, ainsi que les feuilles plus jeunes couvertes d'un feutrage épais, ne semblent pas réceptives.

Il existe également une différence assez notable dans le nombre d'œufs déposés en fonction de l'espèce ou de la variété végétale. Ce phénomène a été tout d'abord démontré expérimentalement sur six lots de 10 femelles élevées à une température de 12°C et une photopériode de 12 h. Trois lots étaient placés dans une enceinte ne contenant qu'une variété, c'est-à-dire 3 feuilles au stade réceptif, soit de « Violet », soit de « Blanc », soit de « Carde ». Les trois autres lots avaient chacun le choix entre une

feuille de « Violet », une feuille de « Blanc » et une feuille de « Carde ». Ces essais d'une durée d'une semaine chacun ont été successivement renouvelés trois fois pendant la période du 13 février au 12 mars.

TABLEAU 2

*Étude de la répartition des pontes d'*A. carduorum *sur trois variétés végétales*

Expériences sans choix					Expériences avec choix				
Variété	1er essai	2e essai	3e essai	Total pour 9 feuilles de chaque variété	Variété	1er essai	2e essai	3e essai	Total pour 9 feuilles de chaque variété
Violet 3 feuilles	86	114	69	269	Violet 3 feuil.	56	110	63	229
Blanc 3 feuilles	87	82	117	286	Blanc 3 feuil.	112	58	63	233
Carde 3 feuilles	157	167	139	463	Carde 3 feuil.	247	172	232	651

Ceux-ci ont donné des résultats très comparables entre eux, et ont montré, qu'avec ou sans choix, on trouvait toujours une ponte significativement supérieure sur « Carde » par rapport au « Violet » et au « Blanc ». Cet écart s'accentue encore dans le cas où les insectes sont en présence des trois végétaux, ce qui laisserait supposer qu'une attractivité préférentielle se surajoute à l'action stimulatrice des Cardes sur la ponte d'*A. carduorum*.

Toutefois, en essai parcellaire de plein champ, nous n'avons pas noté de différence significative dans la répartition des adultes sur ces trois types de végétaux. Par contre, nous avons pu retrouver un écart assez sensible dans le nombre d'œufs déposés en utilisant la méthode comparative suivante : dès la mi-octobre, trente femelles en état de ponte ont été récoltées en plein champ et isolées sur des feuilles en place grâce à des manchons de mousseline à raison de 10 individus pour chacune des trois variétés étudiées. Les feuilles étaient protégées de toute contamination accidentelle du fait que le pied-mère avait subi un traitement préventif ou était isolé sous cage.

A intervalles réguliers de l'ordre de 20 jours, les feuilles réceptrices étaient coupées et les pontes dénombrées ; les femelles étaient simultanément disséquées afin de noter l'état de maturation sexuelle et le parasitisme. Le même jour, les manchons étaient remis en place et les femelles remplacées par des individus récoltés en plein champ.

Parallèlement à cette expérience qui s'est poursuivie jusqu'à la mi-avril, le niveau de la population imaginale naturellement installée dans la culture était estimé visuellement sur 30 pieds préalablement piquetés. On a pu ainsi enregistrer, d'une part le nombre d'œufs susceptibles d'être pondus par une femelle et, d'autre part, la densité numérique des femelles sur la culture.

Il apparaît que le nombre total d'œufs déposés par une femelle maintenue en vie dans les conditions naturelles jusqu'au mois d'avril peut être très élevé puisqu'il

atteint en moyenne 154 sur le « Violet », 145 sur le « Blanc » et 178 sur le « Carde ». La ponte qui s'étale ainsi sur plus de six mois se poursuit avec une intensité relativement soutenue même pendant les mois les plus rigoureux. Si l'on multiplie cette intensité

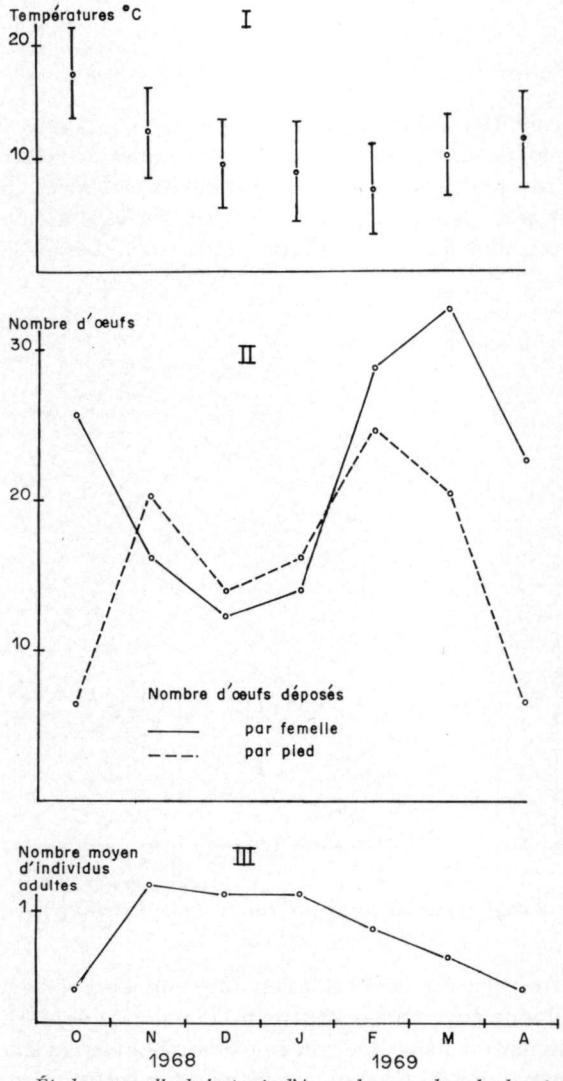


FIG. 3. — *Étude mensuelle de la ponte d'*A. carduorum *dans le champ de « Violet » de Cagnes-sur-Mer durant l'hiver* 1968-69

I. Moyenne des températures (moyenne des maxima et des minima)
II. Nombre moyen d'œufs déposés soit par femelle, soit par pied
III. Nombre de femelles dénombrées par pied.

mensuelle par le nombre de femelles réellement trouvées par pied, on s'aperçoit que, dans le biotope d'études (Cagnes-sur-Mer) et pour l'année considérée (1968-1969), il existe deux maxima successifs de ponte, l'un en novembre et décembre, l'autre en février-mars (fig. 3). D'après ce calcul, la ponte totale moyenne d'une femelle

s'établirait autour d'une centaine d'œufs, ce qui expliquerait qu'avec une densité de femelles n'atteignant pas généralement un individu par pied d'Artichaut à l'automne, on trouve néanmoins des populations très importantes de stades immatures à la fin de l'hiver ainsi que nous le verrons ultérieurement.

3. — *Évolution des populations embryonnaires, larvaires et nymphales*

L'élevage en conditions thermiques contrôlées nous a permis de constater que, d'une part, le développement des différents stades immatures est relativement lent pour des températures comparables à celles existant normalement en périodes automnale et hivernale et que, d'autre part, le seuil thermique est lui-même élevé puisqu'il se situe tant pour les œufs que pour les larves et les nymphes au voisinage de 6-7°C (fig. 4).

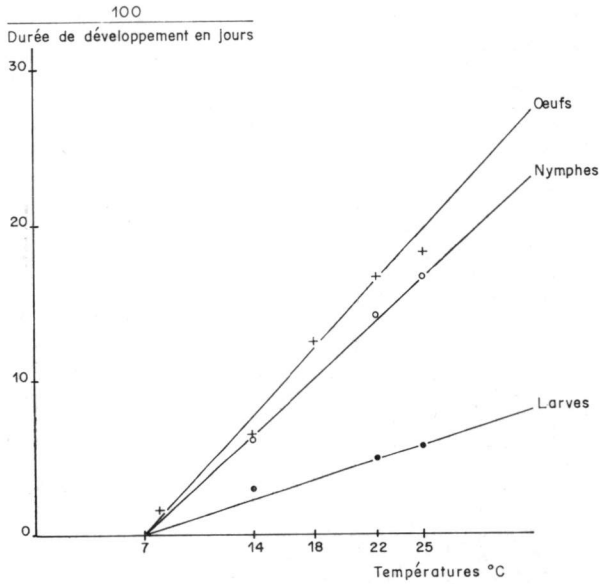


FIG. 4. — *Vitesses de développement des différents stades immatures à plusieurs températures constantes*

Ces particularités ajoutées au fait que la ponte commence seulement à être importante à partir du mois de novembre permettent d'expliquer que, dans la région de Hyères, la population immature passe une grande partie de l'hiver au stade embryonnaire. Le stade larvaire apparaît très tôt mais ne devient dominant qu'en mars ; il constitue la quasi-totalité de la population endophyte en avril. Dès la fin de ce mois, les premières nymphes apparaissent, mais la nymphose et la sortie des nouveaux adultes a lieu au mois de mai pour l'ensemble de la population (fig. 7).

Les difficultés liées à la récolte et à l'examen d'un nombre suffisant d'échantillons dont nous avons exposé plus haut les raisons, ne nous ont pas permis de suivre quantitativement l'évolution du niveau de population. Signalons seulement, à titre indicatif, que de grandes hétérogénéités de distribution apparaissent dans le champ : le 16 janvier 1969, le nombre d'œufs par pied oscillait entre 0 et 44 sur « Violet de prin-

temps », 0 et 73 sur « Violet d'automne » ; dans la même parcelle, au moment de la nymphose, on retrouve des écarts aussi importants dans le niveau de population à l'intérieur de chaque plant : 0 à 64 Apions pour un lot de 10 pieds hébergeant une

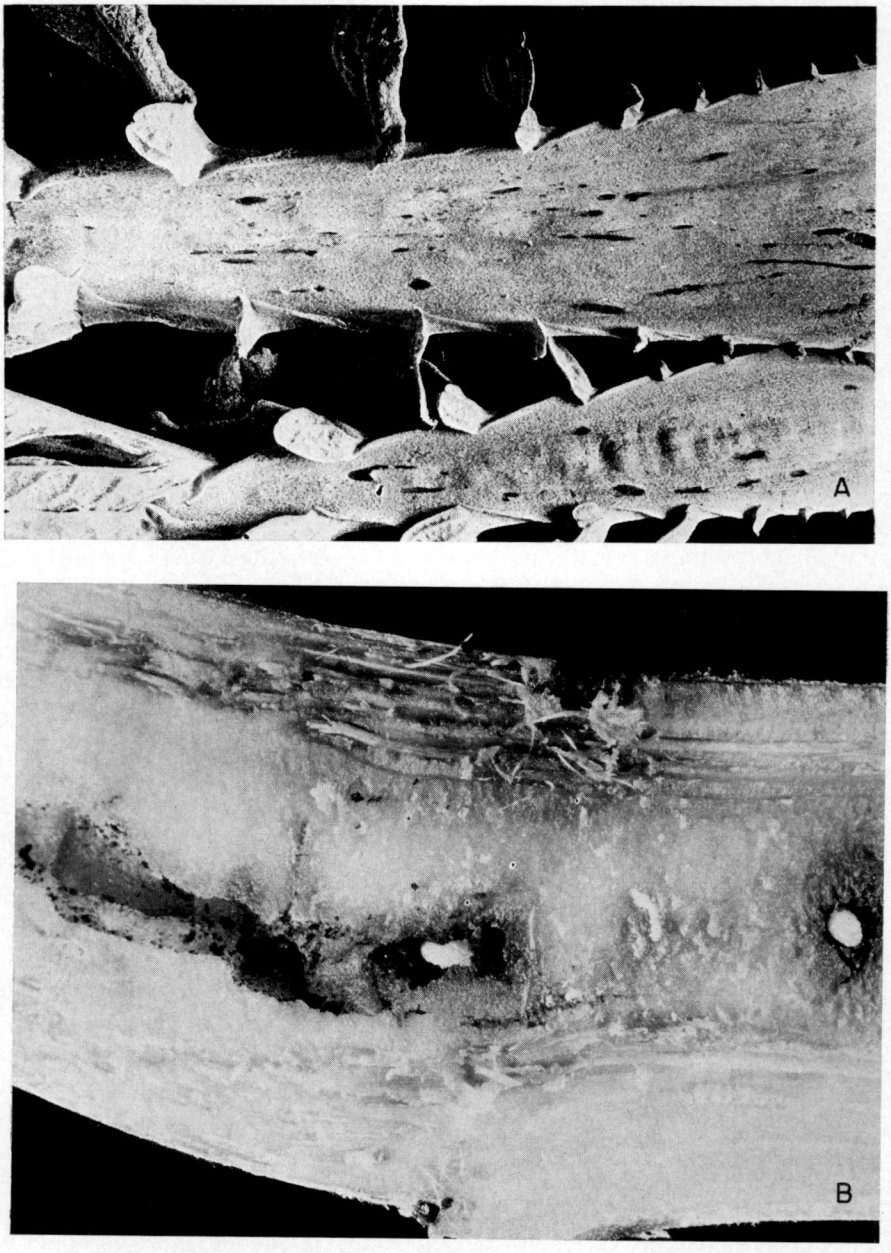


FIG. 5. — A. Pétioles foliaires présentant des traces du passage des larves néonates vers le cœur de la plante (ces perforations ont été déformées et agrandies par suite du développement de la feuille)
B. Galerie alimentaire d'une larve dans une tige d'Artichaut.
(Clichés INRA, Zoologie-Antibes)

population moyenne de 39,3 individus par pied. Comme la population adulte, la population endophyte n'est donc pas répartie de façon homogène. De fortes différences de réceptivité semblent exister à première vue, mais nous n'avons pas eu l'occasion d'analyser en détail ce phénomène qui pourrait éventuellement déboucher sur la sélection de lignées végétales plus ou moins immunes.

L'examen de la figure 7 montre une autre caractéristique de l'évolution des stades endophytes. En effet à l'exception du « Blanc », peu de larves ont été décelées en période printanière à l'intérieur des feuilles ; elles se trouvent généralement dans le cœur et dans les hampes florales : ceci implique une migration très rapide dans ces organes après l'éclosion. En fait, dans les heures qui suivent la sortie de l'œuf, la larve descend à travers les tissus lacuneux du pétiole, généralement jusqu'à sa base où elle fore une galerie horizontale centripète à travers les pétioles des feuilles situées entre la feuille d'origine et le « cœur » ; la trace de cette galerie est visible sur tout ou sur une partie de sa longueur et se trouve parfois considérablement agrandie au terme de la croissance de la feuille, notamment dans la variété « Blanc hyérois » (fig 5A). Les jeunes larves atteignent ainsi le « cœur » de la plante où elles vont continuer leur croissance.

On a essayé de préciser le déterminisme de ce comportement « baladeur » : des feuilles dont le limbe avait été préalablement enlevé, et qui étaient par conséquent réduites au pétiole et à la nervure centrale, ont été offertes à des lots de 10 femelles en état de reproduction de façon à obtenir, en un laps de temps limité (24 heures), le dépôt d'un nombre important d'œufs dans une zone restreinte à 2 ou 3 centimètres, située à mi-distance entre le sommet et la base de cet organe végétal.

Afin d'étudier tout d'abord le rôle éventuel de la géotaxie, ces feuilles ont été placées verticalement, soit en position normale (apex vers le haut), soit en position inversée. Dans le premier cas, les larves ont en majorité émigré vers le bas et sont sorties par la partie inférieure de l'organe (75 p. 100). Une proportion non négligeable a également perforé le pétiole dans la zone médiane (11 p. 100) et dans la zone la plus élevée (13 p. 100), mais ces résultats sont en fait uniquement enregistrés dans trois essais sur six. Dans le deuxième cas, en position inversée, 65 p. 100 des larves sortent également par la portion située en bas (en l'occurence le sommet de la nervure principale) contre 9 p. 100 par la partie médiane et 16 p. 100 par la partie la plus élevée. Il n'y a, dans ce cas, que deux essais sur sept où toutes les larves aient manifesté une géotaxie positive, ce qui laisse supposer que d'autres facteurs interviennent dans leur orientation.

Parmi ceux-ci, on peut invoquer en particulier la phototaxie négative. A cet effet, des pétioles contaminés de la même manière que précédemment, ont été placés en position horizontale et munis d'un cache qui recouvrait, soit la partie postérieure et moyenne, soit la partie antérieure et moyenne ; 80 et 70 p. 100 des larves sont sorties respectivement de la partie obscurcie de cet organe.

Pour interpréter cette expérience de façon satisfaisante, il convient de noter que d'un pétiole placé en position horizontale et éclairé uniformément, respectivement 63 p. 100 des larves sont sorties à la base, 15 p. 100 dans la zone médiane et 22 p. 100 dans la partie sommitale. Ce résultat appelle deux commentaires : ce phototactisme négatif joue certainement un rôle puisque dans la série d'expériences antérieures seulement 30 p. 100 des larves sont sorties de la zone basale éclairée contre 70 p. 100 dans les autres portions soumises à l'obscurité ; mais, par ailleurs, en milieu isotrope

quant à l'éclairement et à la pesanteur, les larves se sont néanmoins orientées vers la base du pétiole ce qui implique l'existence d'un autre facteur qui pourrait être, en première analyse, soit un chimiotactisme, soit une différence de structure des tissus facilitant le déplacement vers les parties basales. On trouve, en effet, dans la moitié postérieure de l'axe foliaire (pétioles), une structure lacunaire plus lâche que dans la partie antérieure (nervure principale).

Lorsque des fragments de tissus jeunes (tige, cœur) sont, soit appliqués à l'extrémité antérieure et postérieure d'un pétiole préalablement contaminé par des œufs, soit intercalés entre deux portions de ce même pétiole, on constate qu'une grande partie des larves qui, dans les autres essais, sortent par les extrémités du pétiole se concentrent alors dans ces organes en pleine croissance. Cette expérience ne prouve pas de façon nette qu'il y a attractivité de certaines parties de la plante, mais démontre que le fait de rencontrer des tissus jeunes entraîne un arrêt de la migration.

En résumé, il apparaît qu'un ensemble de facteurs conduisent les larves à quitter le site de ponte et à effectuer très rapidement, généralement en moins de 24 heuree, une migration descendante jusqu'au niveau des tissus en cours de différenciation du cœur de la plante. A partir de ce moment, la larve se sédentarise et, au cours de son alimentation ultérieure, fore tout au plus une galerie de quelques centimètres de longueur et sans orientation particulière (fig. 5B). Toutefois, durant cette période de prise d'alimentation qui peut durer plusieurs mois compte tenu des conditions climatiques ambiantes, les tissus végétaux dans lesquels la larve est localisée subiront de profondes modifications : différenciations en feuilles ou en tiges ou du moins allongement de ces organes, maturation et même sénescence. L'insecte est alors soumis à un transport passif et se retrouve finalement à différents niveaux, soit des pétioles et des nervures foliaires, soit des hampes florales.

La répartition de la descendance d'*A. carduorum* entre ces deux types d'organes dépendra essentiellement du rythme végétatif de la plante. Si cette dernière, au moment de l'apparition du stade « baladeur », forme uniquement de jeunes feuilles, les larves se retrouveront en quasi-totalité à l'intérieur de ces organes. Si, par contre, elle est au stade de montaison, presque toutes les larves se retrouveront à l'intérieur de la hampe florale. Dans un cas, comme dans l'autre, même si l'organe atteint un stade de sénescence avancée avant la fin du développement larvaire, aucune nouvelle migration n'aura lieu.

C. — FACTEURS LIMITATIFS DES PULLULATIONS

1. — *Influence du climat sur l'évolution des populations*

Nous avons vu précédemment que, dans les biotopes étudiés, les conditions climatiques annuelles et locales sont susceptibles de décaler assez sensiblement les dates de reprise d'activité imaginale (fig. 2, tabl. 1) et, de façon moins marquée, la période de pupaison printanière, mais les caractéristiques générales du cycle monovoltin ne sont pas profondément modifiées. Toutefois, dans certaines localités des Alpes-Maritimes telles que le Plan de Grasse, nous avons pu constater, notamment sur « Violet d'automne », la présence d'insectes mûrs dès le début du mois de septembre.

Ceux-ci ont donc pondu alors que la température était encore relativement élevée. De ce fait, l'éclosion a eu lieu très précocement et les larves ont pu effectuer leur développement dès l'automne et donner naissance à des nymphes et des adultes avant l'hiver. Ce phénomène qui a déjà été observé sur un autre Apion à période de reproduction hivernale (BERTRAN, FABRE et JOURDHEUIL, 1970), est généralement interrompu par le dessèchement du pied après fructification, c'est-à-dire en janvier-février, si bien que le nombre d'individus susceptibles d'effectuer un développement complet est très réduit et n'a aucune incidence économique.

Dans les Pyrénées-Orientales, nous avons noté le même cycle évolutif que dans le Var et les Alpes-Maritimes. Par contre, en Gironde dans la région de Macau, le rythme de développement, sans être profondément altéré, subit un retard de trois semaines à un mois. Bien que nos observations soient très partielles, il semble que la nymphose intervienne seulement fin mai et début juin et que les jeunes adultes apparaissent au début de l'été.

2. — *Influence de la plante-hôte*

Les stades préimaginaux de cet insecte ayant tous une vie endophyte peuvent être profondément affectés par l'état sanitaire de la plante-hôte.

C'est ainsi qu'une partie des œufs déposés en automne et qui subsistent à ce stade plus d'un mois, sont détruits par suite de la nécrose et du dessèchement des feuilles réceptrices. Celles-ci sont en effet soumises à un renouvellement rapide au cours de l'automne et de l'hiver notamment chez le « Violet de printemps » et le « Blanc ». Nous avons vu déjà précédemment que, chaque mois, 20 à 30 p. 100 des feuilles disparaissent, phénomène d'ailleurs largement compensé par la poussée de nouveaux organes.

En ce qui concerne le « Violet d'automne », c'est la totalité de la descendance produite par *A. carduorum* au cours de l'automne qui est éliminée par dessèchement du pied-mère après fructification.

Une mortalité relativement importante peut également être enregistrée, comme cela a été le cas en mars 1971, à l'occasion d'un gel tardif survenant au début de la période de fructification et ayant pour conséquence la destruction au moins partielle des pieds-mères.

De tels accidents climatiques expliquent en partie les variations brutales du niveau de population, notamment au stade imaginal, enregistrées dans cette région, mais ils ne sont certainement pas les seuls en cause. En fait, l'étude des populations a montré qu'il n'y avait aucune concordance numérique entre la densité de jeunes adultes issus au printemps des pieds d'Artichauts (plusieurs dizaines par pied) et la densité retrouvée à l'automne sur les nouvelles cultures (moins d'un individu en général par pied). Il apparaît donc que la principale phase de destruction se situe en période d'estivation et peut atteindre plus de 90 p. 100 de la population.

3. — *Action des ennemis naturels sur les pullulations*

Les ennemis les plus fréquemment rencontrés sont des Hyménoptères parasites larvaires, nymphaux et imaginaux. Toutefois, dans certaines localités des Alpes-Maritimes, nous avons noté à plusieurs reprises la présence d'un Nématode entomopara-

site actuellement en cours de détermination, qui vit dans la cavité générale des adultes. Celui-ci ne provoque pas immédiatement la mort de son hôte mais diminue probablement la fécondité des femelles. Le taux de parasitisme oscille, selon le biotope, entre 1 et 6 p. 100 des individus disséqués au cours d'une année.

Un Hyménoptère *Braconidae*, morphologiquement très voisin de *Microctonus melanopus* RUTHE, s'attaque également aux adultes. Dans les différents biotopes étudiés, sa présence a été décelée dans environ 5 p. 100 de la population imaginale dont il provoque régulièrement la castration. Contrairement à une autre espèce de *Microctonus* trouvée sur *A. pisi* dans la région toulousaine (BERTRAN, FABRE et JOURDHEUIL, 1970), le parasite n'a pas une succession de générations bien tranchées, sauf pendant la période d'estivation où la larve de *Microctonus* subit un arrêt de développement au premier stade durant toute la phase de diapause de l'hôte ainsi qu'on l'observe communément sur d'autres espèces du même genre (JOURDHEUIL, 1961). Par contre, et sans doute à la suite de l'étalement de la reprise d'activité imaginale de l'hôte, pendant toute la période de reproduction d'*A. carduorum*, les générations se chevauchent et l'on note simultanément la présence, dans une même population d'Apions, de larves de parasites à des stades fort différents de développement. Beaucoup d'entre elles arrivent au terme de leur croissance en période hivernale et, de ce fait, il se produit certainement une forte mortalité en cours de nymphose ce qui expliquerait le peu d'efficacité de cet auxiliaire.

Les ennemis naturels les plus fréquemment rencontrés sont en fait des Hyménoptères parasites larvaires et nymphaux, notamment un *Braconidae, Triaspis flavipalpis* WESM., et un *Pteromalidae, Trichomalus altheae* ERDOS. Il est également sorti de nos éclosoirs un autre Chalcidien, *Sphegigaster nigricornis* NEES, mais son degré de spécificité n'a pu être établi avec certitude.

T. flavipalpis est un endoparasite larvaire qui, dans la localité d'Hyères, n'atteint qu'une faible proportion de la population hôte : 2. p. 100 en 1967, 0,5 p. 100 en 1968, 5 p. 100 en 1969 et 0 p. 100 en 1970. La seconde espèce, *T. altheae*, parasite externe des larves âgées et des nymphes, est un peu plus abondamment représentée : 15 p. 100 des hôtes détruits en 1967, 2 . p 100 en 1968, 5 p. 100 en 1969, et 3 p. 100 en 1970.

D'une façon générale le parasitisme n'a donc qu'une action limitative assez restreinte. Les deux facteurs principaux de destruction semblent être, tout d'abord, la mortalité hivernale des stades immatures par élimination du support végétal et, surtout, la disparition des adultes en état de diapause. Faute de pouvoir repérer avec précision les sites d'estivation, il n'a malheureusement pas été possible de suivre ce dernier phénomène avec exactitude. Or sa connaissance serait certainement d'un grand intérêt pour la prévision des fluctuations annuelles de population.

D. — DÉGATS ET MÉTHODE DE LUTTE

1. — *Différents aspects de la nuisibilité d'*A. carduorum

Tous les auteurs, notamment MELIS (1951) et BALACHOWSKY (1938), s'accordent pour reconnaître que les morsures nutricielles des adultes n'ont aucune importance économique mais qu'en revanche les larves sont susceptibles de commettre des dégâts sérieux.

Leur importance n'est toutefois pas directement liée à la densité de la population endophyte mais essentiellement à sa localisation. Ainsi, lorsqu'après le stade « baladeur », la larve termine son développement à l'intérieur d'une feuille, elle n'affecte

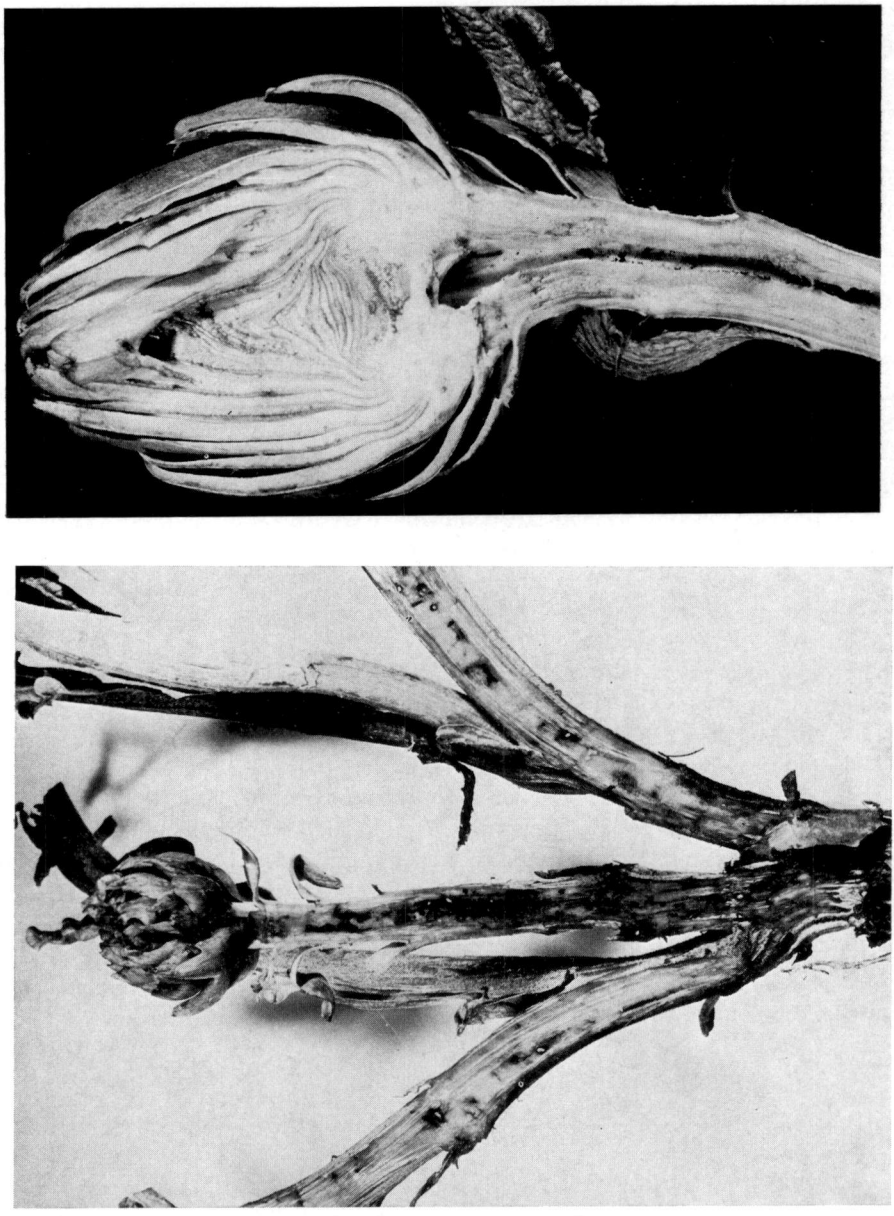


FIG. 6. — A. Nécrose médullaire d'une hampe florale due à la destruction du méristème par une larve d'Apion.

B. Coupe longitudinale d'un pied d'Artichaut montrant le dessèchement du premier capitule consécutif à la présence de nombreuses galeries larvaires.

(Clichés INRA, Zoologie-Antibes)

apparemment pas la vitalité de la plante, et même pas celle de l'organe qu'elle colonise. Par contre, l'installation à l'intérieur de la hampe florale aura des conséquences beaucoup plus fâcheuses : la plupart des larves se retrouvent à la base de cet organe ou dans sa partie intermédiaire ; elles provoquent fréquemment des nécroses internes pouvant entraîner le dessèchement prématuré ou la déformation du premier capitule et exercent une action perturbatrice sur le développement et la différenciation des hampes secondaires qui a pour conséquence la réduction du nombre de capitules, et parfois la déformation de ces derniers (fig. 6).

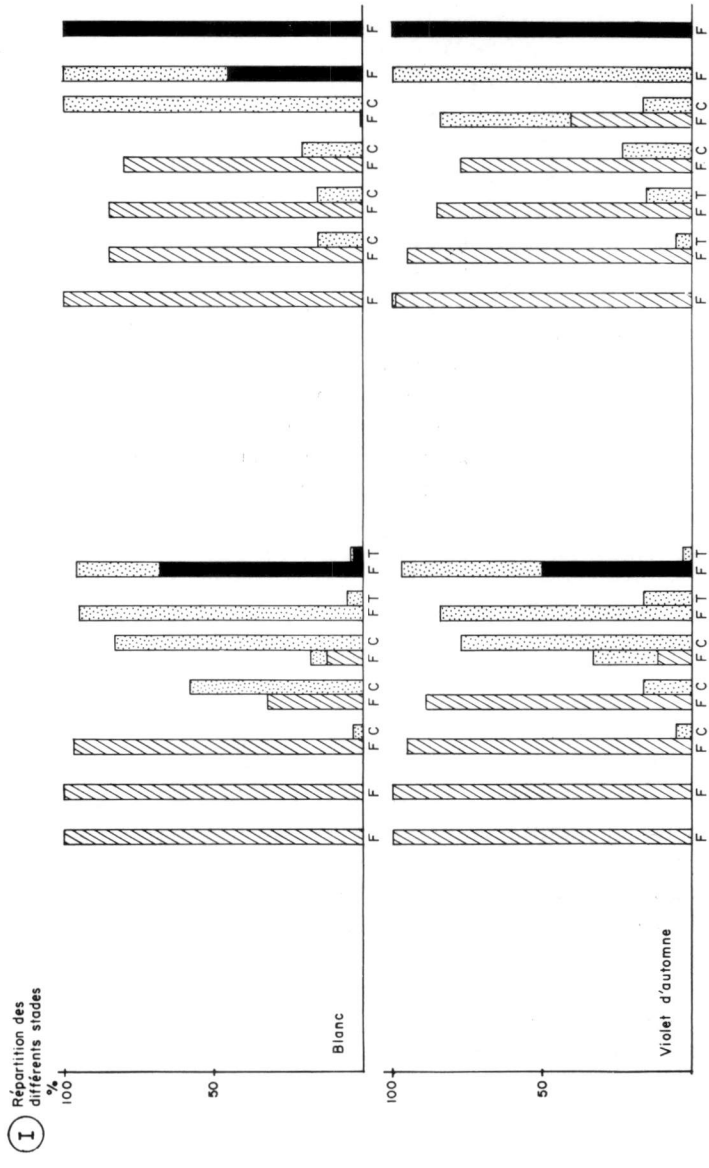
En d'autres termes, compte tenu de ce que nous avons vu précédemment, il y aura des dégâts importants dans la mesure où la période principale d'éclosion des œufs, c'est-à-dire la phase « baladeuse », coïncidera avec l'arrêt de la poussée foliaire et le début de la mise à fruit : les larves néonates qui auront alors gagné le cœur de la plante se retrouveront ultérieurement en quasi-totalité à l'intérieur des tiges.

Or, quelles que soient les conditions du milieu au niveau du littoral méditerranéen, la période principale des éclosions se situe en février alors que le cycle végétatif varie de façon considérable d'une variété à l'autre. Seul le « Violet de printemps » a une phase de montaison en étroite coïncidence avec le stade « baladeur ». Chaque année, une proportion très importante de larves se trouvent localisées à l'intérieur des tiges et les dégâts précédemment décrits se manifestent dans toute leur ampleur avec des pertes de récoltes non négligeables même en cas de faible densité numérique des ravageurs (Bertran et Millot, 1969). Par contre, le premier cycle de fructification du « Violet d'automne », situé avant les grands froids, échappe à de tels dégâts puisque la population d'*A. carduorum* est encore au stade embryonnaire et sera ultérieurement détruite par la mort du pied-mère au cours de l'hiver. La formation des capitules sur le « Blanc hyérois » ainsi que la deuxième période de récolte sur le « Violet d'automne » sont retardées de près de deux mois par rapport à celle du « Violet de printemps » ; la phase principale de migration des larves se situe ainsi avant la différenciation des capitules et, de ce fait, la plupart d'entre elles se développeront à l'intérieur des feuilles qui se forment encore en fin d'hiver (fig. 7). Même si la densité de stades endophytes est très élevée, leur action se limitera, tout au plus, à un ralentissement du développement de la plante-hôte.

2. — *Conséquences en matière de protection des cultures*

Sauf en cas d'infestation à caractère tout à fait exceptionnel, la densité numérique des adultes d'*A. carduorum* à l'automne, c'est-à-dire en période de reproduction, dépasse rarement un individu par pied. Compte tenu de la longévité et de la fécondité moyenne des femelles, cette densité peut couramment conduire à la production de plusieurs dizaines, voire même d'une centaine de descendants.

Sur le « Blanc » et le « Violet d'automne », nous avons pu démontrer, tout au moins dans les conditions de culture du littoral méditerranéen, que l'incidence sur la production d'une telle population reste négligeable. Par contre, en ce qui concerne le « Violet de printemps », ce chiffre est certainement supérieur au seuil critique puisque, en 1969, on enregistrait une perte de récolte de 16 p. 100 avec une densité larvaire moyenne de 26 individus par pied (Bertran et Millot, 1969). Compte tenu de l'intérêt présenté par cette culture, bien adaptée écologiquement au pays, très productive à une époque intéressante pour la vente, il convient d'envisager des mesures


I Répartition des différents stades
%
100
50
Blanc
Violet d'automne
F
FC
FT

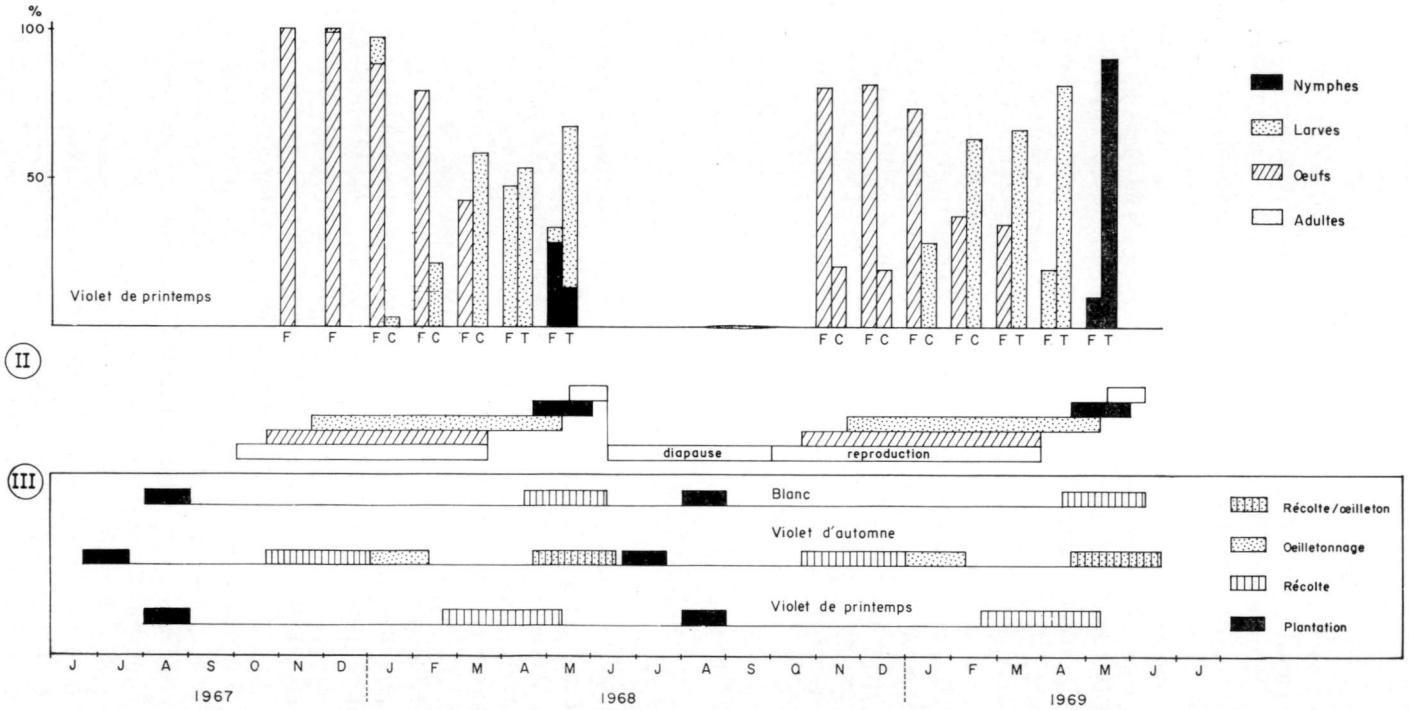


FIG. 7. — *Influence du cycle cultural de la plante-hôte sur la répartition des stades immatures de l'Apion dans différents organes végétaux*
(Hyères, 1967-1968 et 1968-1969)

I. Répartition en pourcentage, des divers stades de l'Apion dans les feuilles (F.), le cœur (C.) et les tiges (T.) de trois variétés d'Artichauts.
II. Cycle biologique de l'Apion.
III. Particularités culturales des trois variétés d'Artichaut.

efficaces de protection qui, dans l'état actuel de nos connaissances, ne peuvent être que chimiques.

En raison de la vie endophyte des stades immatures, et notamment des stades larvaires, des dangers présentés tant à l'égard du consommateur que de l'entomofaune utile par des traitements curatifs effectués en période de fructification, la meilleure solution consiste à détruire la génération parentale. L'époque la plus favorable se situe évidemment à partir du moment où la majorité de la population imaginale a colonisé les cultures automnales et avant que les femelles n'aient commencé à pondre. Du fait de la localisation très dispersée des pontes et de la faible densité des adultes souvent cachés dans le feuillage, ces deux critères sont difficiles à établir visuellement. En fait, l'étude des populations nous a montré que, d'une façon assez constante, quels que soient l'année et le biotope, la recolonisation était en grande partie effectuée avant la fin du mois de novembre et que les pontes étaient alors très peu nombreuses et souvent éliminées par la destruction des feuilles les plus âgées en cours d'hiver. En d'autres termes, un seul traitement utilisant des insecticides de contact, dirigé contre les adultes à cette période de l'année doit permettre d'éliminer la quasi-totalité de la population d'Apions. C'est sur ces bases qu'ont d'ailleurs été mis en place plusieurs essais de lutte en 1968, 1969 et 1970, essais dont les résultats n'ont malheureusement pas pu être définitivement concluants les deux dernières années par suite d'une trop faible population en 1969-1970 et d'un gel tardif qui anéantit les essais en 1970-1971.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Sur tout le littoral méditerranéen, *A. carduorum* var. *galactitis* WENCK est un ennemi endémique des cultures d'Artichaut.

Son cycle évolutif ne comporte qu'une génération annuelle. Peu après leur mue imaginale qui se situe au mois de mai, les adultes quittent les cultures et cessent toute activité jusqu'à l'automne. Il s'agit d'une véritable diapause dont la durée est principalement contrôlée par la photopériode et qui est caractérisée par un arrêt de l'alimentation et du développement des gonades.

La reprise d'activité commence à des dates variables selon les années et les lieux, vraisemblablement en fonction du régime des précipitations : exceptionnellement en septembre, plus couramment en octobre, parfois seulement en novembre. Il s'agit d'un phénomène très progressif qui souvent s'étale sur plusieurs mois et ne cesse parfois qu'à l'arrivée des grands froids. C'est durant cette période que s'effectuent les accouplements et la maturation sexuelle ; les mâles disparaissent en totalité dès la fin de l'automne, les femelles seulement au mois de mars ou avril, c'est-à-dire après avoir déposé dans les feuilles près d'une centaine d'œufs sur une période de 6 mois pratiquement sans interruption sauf en période de gel.

Du fait d'exigences thermiques relativement élevées, les stades préimaginaux ont une évolution assez lente. Sauf cas exceptionnel, par exemple celui de sites particulièrement protégés, l'hivernation de ces stades se fait essentiellement à l'état d'œuf et l'éclosion larvaire a lieu principalement en février. Dès son apparition, la jeune larve présente un stade « baladeur ». Grâce à l'existence d'un tissu lacuneux à l'inté-

rieur de l'axe foliaire et sous l'effet de stimuli complexes (géotaxie positive, phototaxie négative), elle gagne généralement, par l'intermédiaire du pétiole, le « cœur » de la plante où elle commence sa phase d'alimentation dans des tissus et organes jeunes en cours de différenciation. Au cours de la croissance et du développement ultérieurs de ces organes, les larves seront alors transportées passivement à des distances souvent très éloignées du « cœur » : pétiole, nervure de feuille ou différents niveaux de la hampe florale y compris éventuellement la base de fructifications. C'est à l'intérieur de ces organes, qui ont entre temps atteint la maturité ou la sénescence, qu'aura lieu la nymphose en avril et mai et la formation des jeunes adultes qui perforent les tissus pour atteindre le milieu extérieur.

Durant la période de développement, deux facteurs sont susceptibles de modifier le niveau de population. La sénescence des organes végétaux provoque indirectement la mort des œufs ou des larves ; elle a surtout un rôle important sur le « Violet d'automne » où le pied-mère se dessèche complètement en cours d'hiver ; sur les autres variétés, il y a seulement disparition des feuilles les plus âgées sauf en cas de gel accusé comme en 1971. Il existe également plusieurs ennemis naturels des adultes (un Nématode indéterminé, un *Braconidae* voisin de *Microctonus melanopus* RUTHE), des larves et des nymphes (surtout un Braconide endoparasite *Triaspis flavipes* WESM. et un Pteromalide ectoparasite *Trichomalus altheae* ERDOS) ; ceux-ci ne semblent avoir qu'un rôle relativement limité. En fait, à la mue imaginale, les populations atteignent couramment des densités de plusieurs dizaines d'individus par pied alors qu'à l'automne il est exceptionnel de rencontrer plus d'un à deux adultes sur les plants. En d'autres termes, la période principale de mortalité se situe en été au cours de la diapause imaginale, mais faute d'avoir pu localiser les sites de repos, il est difficile d'en préciser l'origine.

Les dégâts sont essentiellement liés à la présence d'une forte proportion de larves dans la hampe florale ; celle-ci se dessèche prématurément, les fructifications secondaires avortent, sont déformées ou ralenties dans leur développement. Une telle colonisation s'observe seulement dans le cas où la période principale d'éclosion et de migration des larves dans le « cœur » (février-mars) coïncide avec la phase de différenciation des fructifications. Compte tenu du cycle végétatif des diverses variétés cultivées dans le pays, seul le « Violet de printemps » risque d'être couramment affecté à l'inverse du « Violet d'automne » et du « Blanc hyérois ».

Comme le « Violet de printemps » s'avère par ailleurs écologiquement bien adapté à la région et économiquement intéressant, il convient de le protéger. Dans l'état actuel de nos recherches, la méthode la plus efficace consiste à détruire les adultes à l'aide d'un traitement chimique effectué durant la deuxième quinzaine de novembre, c'est-à-dire à la fin de la recolonisation des cultures par les imagos et avant la période principale de ponte. Du fait que les niveaux de population larvaire atteignent fréquemment un seuil critique et qu'il est difficile d'estimer sur la culture la densité d'adultes, d'ailleurs généralement très réduite, il est actuellement conseillé de faire systématiquement dans cette région, un traitement préventif à l'époque précitée.

Sur le Cardon, la fécondité des femelles semble nettement plus élevée que sur les variétés d'Artichaut cultivées pour le fruit. Si nous n'avons pas relevé globalement de différences significatives entre ces dernières variétés tant en ce qui concerne le nombre d'œufs déposés que le niveau de population imaginale, par contre, au sein d'une même variété, il apparaît des écarts considérables d'un pied à l'autre. Cette

particularité pourrait éventuellement être exploitée en vue de la sélection de lignées moins réceptives.

Reçu pour publication en juillet 1972.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement M. RABINIAUX, Directeur du lycée agricole et horticole d'Hyères, ainsi que M. MOULIN, chef d'exploitation, pour l'aide extrêmement efficace qu'ils nous ont apportée au cours de la réalisation de ce travail.

SUMMARY

ECOLOGY OF THE ARTICHOKE APION, *APION CARDUORUM* VAR. *GALACTITIS* WENCK. ON THE MEDITERRANEAN SHORE

Along the mediterranean shore *A. carduorum* has only one generation. In Spring, shortly after their appearance, the adults leave the crop and come into diapause. The re-colonization of the plantings takes place progressively at fall, and the egg laying located in the petioles and the leaf-ribs, is spread over from October to April.

The damages, which are characterized by a disorganisation of the artichoke fructification, result from the colonization of the setting floral stems by the larvae migrating right after their eclosion to the central parts of the plant.

These crop losses mostly concern the « spring violet » variety of which the fruit setting phase coïncides with the period of larval eclosion (end of winter). Although the level of imaginal populations is usually low (less than one adult on one plant), such damages are often important because of the high fecundity of the females (about 100 eggs) and chemical control is necessary in order to prevent the adults appearance.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARTIGALA J. 1936. Quelques ennemis des artichauts. *Rev. Mar. Fruit primeurs Afrique du Nord*, **6**, 68.

BAILLARGE E., 1924. Un ennemi de l'artichaut, l'*Apion carduorum* KIRBY. *Rev. zool. agric. appl.*, **23** (11), 269-272.

BALACHOWSKY A. S., 1938. Sur les dégâts de l'Apion de l'artichaut (*Apion* (*Ceratapion*) *carduorum* KIRBY, var. *galactitis* WENCK.) *Rev. Pathol. végét. Ent. agric.*, **25** (4), 229-233.

BERTRAN M., FABRE J. P., JOURDHEUIL P., 1970. Influence de quelques facteurs sur la dynamique des populations de l'Apion de la luzerne (*Apion pisi* L.). *Ann. zool. écol. anim.*, **2** (1), 5-23.

BERTRAN M., MILLOT P., 1969. Recherche d'une méthode de lutte contre l'Apion de l'Artichaut (*Apion carduorum* KIRBY). *Rev. Zool. agric. Pathol. végét.*, **68** (7-9), 116-122.

BRUNETEAU J., 1936. L'Apion des Artichauts. *Rev. Zool. agric. Pathol. végét.*, **35** (3), 44-45.

CAILLOL H., 1954. *Catalogue des Coléoptères de Provence*, 4e partie, 368-369. Museum d'Histoire naturelle, Paris.

FRAUENFELD G. V., 1868. Biologie d'*Apion carduorum* v. *galactitis* WENCK. *Verh. zool. bot. ges. Wien*, **18**, 159.

HOFFMAN A., 1958. *Coléoptères Curculionides* (3e partie). *Faune de France*, **62**, 1512-1514.

HOFFMAN, A., 1963. in A. S. BALACHOWSKY, *Traité d'Entomologie appliquée à l'Agriculture*. Tome I. *Coléoptères* Second volume, *Apioninae*, 1189-1192. Éd. Masson et Cie Paris.

LABEYRIE V., 1957. Les Insectes ravageurs de l'Artichaut. *Journées maraîchères méridionales Hyères* 17-18 *mai* 1957, 63-77

LABEYRIE V., 1957. Les Insectes nuisibles aux Artichauts dans le Sud-Ouest de la France. *Phytoma* 89, 13-20.

MELIS A., 1941. Contributo alla conoscenza dell'Apion del carciofo, *Apion* (*Ceratapion*) *damryi* DESBR. *Redia*, **27**, 135-165.

PEYERIMHOFF P. de, 1919. Notes sur la biologie de quelques Coléoptères phytophages du Nord-Africain. *Ann. Soc. ent. Fr.*, **88**, 169-260.

RUSSO G., 1969. Un insetto dannoso al carciofo (*Apion* (*Ceratapion*) *damryi* DESBR.). *L'Italia agricola*, **1**, 43-45.

WENCKER A., 1858. *Apion carduorum*, var. *galactitis*. *Bull. Soc. entom. Fr.*, **6**, 22.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 69-79.

ÉTUDE DE LA FORMULATION ET DE LA CONSERVATION D'UNE PRÉPARATION ENTOMOPATHOGÈNE A BASE DE BLASTOSPORES DE *BEAUVERIA TENELLA* (DELACR. SIEMASZKO) (1)

H. BLACHÈRE *, J. CALVEZ *, P. FERRON **, G. CORRIEU * et P. PERINGER *

* *Laboratoire de Microbiologie industrielle, Centre de Recherches de Dijon, I. N. R. A., 7, rue Sully, 21034 Dijon Cedex*

** *Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocœnotique, I. N. R. A., La Minière, 78000 Versailles*

RÉSUMÉ

Les blastospores de *Beauveria tenella*, B. t. 6, cultivées en cuve profonde sont récoltées par filtration ou centrifugation et mélangées à un support inerte de poudre de silice. La déshydratation est effectuée par un courant d'air sec à 25°C en présence d'un mélange protecteur composé de saccharose, glutamate de sodium, et huile de paraffine contenant 10 p. 100 de glycéride oléique polyoxyéthyléné. Une conservation de 8 mois peut être obtenue sans perte d'activité notable à 4°C ou sous vide à la température du laboratoire.

INTRODUCTION

La multiplication du champignon entomopathogène *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO (*Fungi imperfecti*, MONILIALES), soit sur la forme de conidiospores (KLOCHKO 1970), soit sous la forme de blastospores (CATROUX, CALVEZ, FERRON et BLACHÈRE, 1970), a déjà fait l'objet d'études détaillées, inspirées en général des résultats obtenus antérieurement avec l'espèce voisine *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN (SAMŠIŇÁKOVÁ, 1964, 1966 ; TELENGA et GORAL, 1966 ; ZAKHARCHENKO, 1967 ; ZAKHARCHENKO, PRIMAK et GORAL, 1963). Dans les deux cas des difficultés analogues ont été rencontrées pour assurer une production de spores à l'échelle industrielle : d'une part les procédés technologiques proposés pour la multiplication des conidiospores, s'inspi-

(1) Ce travail a été réalisé grâce au concours de la Délégation générale à la Recherche scientifique et technique (convention de Recherche n° 68 01 309). Il fait l'objet du brevet Français n° 72 35 452.

rant du principe de la culture aérienne en surface d'un milieu nutritif solide ou semi-solide, ne peuvent être aisément transposés au niveau industriel en raison du matériel et de la main-d'œuvre nécessaires ; d'autre part, la viabilité limitée des blastospores obtenues en culture liquide profonde limite considérablement les possibilités de conservation de quantités importantes de matière active. C'est pourquoi nos efforts se sont portés sur la mise au point de la formulation d'une préparation expérimentale de blastospores de *B. tenella* dans le but d'obtenir une conservation améliorée de la matière active.

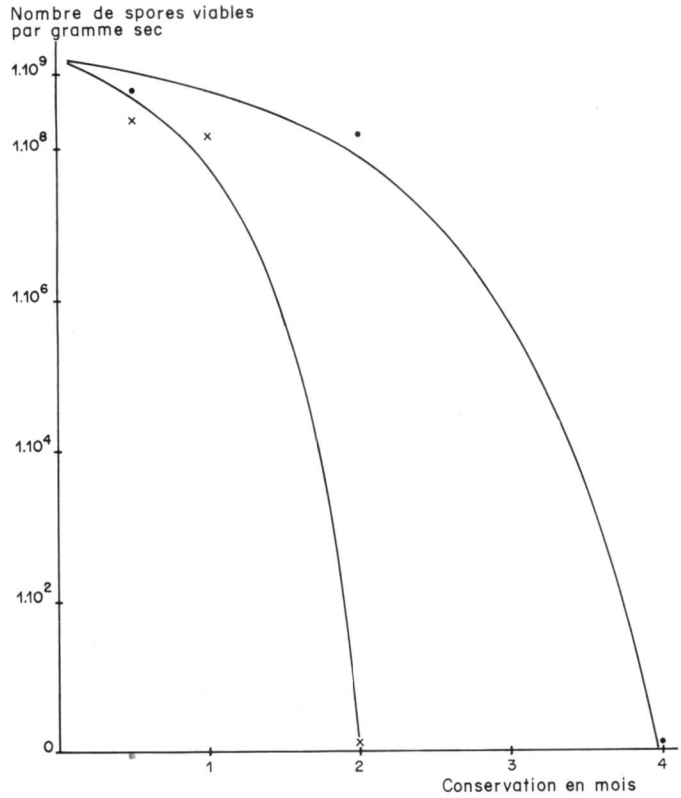


FIG. 1 — *Évolution du nombre de blastospores viables dans la préparation humide conservée à l'obscurité.*
—●— à 4°C
—×— à 23°C

Dans un premier temps (CATROUX *et al.*, 1970), des cultures de *B. tenella* en fermenteur pilote de 250 l ont été réalisées, permettant d'obtenir une préparation humide titrant, au départ, 1 à 8 · 10⁹ blastospores viables au gramme. Cette formulation a été utilisée pour les essais préliminaires d'infection des insectes et la réalisation de traitements expérimentaux. Son inconvénient majeur est sa faible durée de conservation ; ceci apparaît sur la figure 1 représentant le taux de survie des blastospores conservées suivant cette forme.

On voit qu'après deux mois de stockage à 23°C et 4 mois à + 4°C, il ne reste pratiquement plus de spores viables.

La formulation humide nécessite, d'autre part, une fabrication à l'abri des contaminations, puisqu'elle est susceptible de permettre la multiplication de germes étrangers au cours du stockage.

Une telle fabrication est donc délicate et coûteuse. Le produit obtenu permet une expérimentation mais ne saurait convenir en pratique agricole.

Ces considérations nous ont conduits à étudier une technique de déshydratation des blastospores. Une telle préparation serait en effet susceptible de conserver l'activité entomopathogène plus longtemps et, étant impropre à la prolifération des contaminants, ne nécessiterait pas l'asepsie au cours de la phase de conditionnement des cultures.

Les blastospores de *Beauveria tenella* présentent certes une certaine forme de résistance mais à un moindre degré que les spores de *Bacillus* : elles ne peuvent en particulier être séchées sans précautions à partir des cultures.

L'objet du présent travail est la mise au point d'une formulation d'agents protecteurs et d'une méthode de séchage susceptibles d'assurer la survie des blastospores ainsi que leur conservation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — *Choix de la souche*

La culture de *B. tenella* utilisée provient de la mycothèque de la Minière (souche B. t. 6). Elle a été isolée d'une larve du Hanneton commun, *Melolontha melolontha L.* et est la plus virulente de celles conservées en collection.

2. — *Conditions de culture*

L'inoculum est préparé en fioles coniques de 500 ml contenant 100 ml de milieu de culture, incubé à 23°C pendant 3 jours et ensuite transféré aseptiquement en fermenteur de 10 l contenant 7 l de milieu faiblement agité et aéré (transfert d'oxygène 0,3 mmoles d'O_2/litre/min.). La sporulation est complète au bout de 5 jours. Le contenu de ce fermenteur est alors introduit aseptiquement dans un fermenteur de 250 l contenant 150 l de milieu de culture ; la vitesse d'agitation est de 400 t/min. et le débit d'air 50 l/min.

Les cultures en fermenteur de 10 l et 250 l sont réalisées à 23°C $\pm$ 0,5. Le milieu de culture utilisé en fiole et en fermenteur a la composition suivante en grammes :

extrait soluble de maïs (corn steep liquor)	20
saccharose (1)	30
$PO_4\ H_2K$	2,26
$PO_4\ Na_2\ H,\ 12\ H_2O$	3,8
$Mg\ SO_4,\ 7\ H_2O$	0,123
$Fe\ SO_4,\ 7\ H_2O$	0,023
$Zn\ SO_4$	0,020
$K_2\ SO_4$	0,174
$CaCl_2,\ 2\ H_2O$	0,147
eau q. s. p. f.	1 litre

Ce milieu est à pH 4,5

3. — *Récolte des spores*

La sporulation est complète en fermenteur de 250 l après 5 jours de culture. Les essais de filtration en laboratoire ont été effectués directement sur la culture, d'abord sur verre fritté de porosité 1 à 3, puis sur Büchner garni de papier Chardin.

(1) Le saccharose est stérilisé séparément à 110°C.

Les essais-pilotes ont été réalisés sur filtre presse Cofram-Seitz comportant 4 plateaux 40 × 40 cm recouverts de plaques de papier gaufré 325 g/m².

La centrifugation a été effectuée en laboratoire au moyen d'une centrifugeuse Sorvall réfrigérée. Les essais-pilotes ont été conduits avec une centrifugeuse continue Westphalia à débourbage automatique SAOH 3 000. Cet appareil ne possédait pas de dispositif de réfrigération. Le débit était réglé à 100 l/h. Le débourbage était effectué en 0,8 secondes.

4. — *Incorporation des protecteurs*

Après filtration, ou centrifugation, les spores récoltées forment une pâte à laquelle sont incorporés successivement un excipient inerte, puis les adjuvants de séchage. Ceci est obtenu au laboratoire par simple trituration dans un bécher, et, au niveau pilote, dans un malaxeur Bouvar muni d'un bol de 50 l et d'un bas d'agitation double.

5. — *Technique de numération*

La technique de suspension dilution (Pochon, 1954) a été utilisée pour la numération des préparations sèches :

2 g d'échantillon sont mis en suspension dans 100 ml d'eau stérile. On effectue ensuite des dilutions successives — 1 ml de chacune des dilutions est étalé sur une boîte de Petri.

Le comptage des colonies est effectué après 4 jours d'incubation à 23°C. Cinq boîtes de Petri ont été utilisées pour chaque dilution.

RÉSULTATS

1. — *Récolte par filtration*

Les essais de laboratoire et pilote ont montré que les blastospores malgré leurs dimensions assez faibles, peuvent être très facilement récoltées sur filtre. Elles sont très peu colmatantes et n'exigent aucun adjuvant de filtration. Avec les papiers de filtration utilisés, une surface de 70 cm² par litre de culture sous une dépression de quelques centimètres de mercure, est suffisante et permet de récolter 37 g de spores humides. Le gâteau obtenu contient environ 22 à 25 p. 100 de matière sèche (1) et 1 à 2 · 10^{10} spores viables au gramme. Le rendement de récupération en spores viables atteint 60 p. 100.

2. — *Récolte par centrifugation*

Les essais de laboratoire ont été tout d'abord effectués à 4°C. A 15 000 *g* pendant 20 minutes, le culot de spores titre 19 à 22 p. 100 de matière sèche et 1 à 2 · 10^{10} spores viables au gramme humide. Le surnageant limpide ne contient plus de spores. Le taux de récupération en spores viables est voisin de 100 p. 100.

Les essais ultérieurs ont porté sur des volumes de culture plus importants (10 l) au moyen d'une centrifugeuse Sharpless refroidie par circulation d'eau à 15°C et donnant une accélération centrifuge de 20 à 25 000 *g*.

Le culot de spores est plus compact : 24 à 28 p. 100 de matière sèche, il contient 2 à 2,5 · 10^{10} spores vivantes au gramme humide. Le taux de récupération des spores viables est de 95 à 100 p. 100.

(1) Déterminée à poids constant à l'étuve à 105°C.

Ces résultats encourageants nous ont incités à effectuer une série d'essais sur centrifugeuse industrielle. Les volumes de culture traités ont été de 150 l. La clarification est complète avec un débit de 100 l/h. L'accélération centrifuge était de l'ordre de 10 000 *g*. La pâte de spores expulsée lors du débourbage du bol en marche titrait en moyenne 16 à 18 p. 100 de matière sèche. Un réglage très soigneux du temps d'ouverture du bol permet d'obtenir jusqu'à 22 p. 100 de matière sèche. Le nombre de spores viables est de 0,5 à $2 \cdot 10^{10}$ par gramme humide : la récupération dépasse 80 p. 100. La centrifugeuse n'était pas munie de dispositif de refroidissement de sorte que le culot de spores était porté pendant 1 h 30 à 40-45°C. Le rendement de la récupération pourrait donc certainement être encore amélioré. La faible précision des numérations ne permet pas d'affirmer avec certitude des différences significatives entre 0,5 et $2 \cdot 10^{10}$. Les diverses méthodes apparaissent ainsi sensiblement équivalentes.

3. — *Recherche d'adjuvants de séchage*

3. 1. *Adsorbants.*

Les spores obtenues, soit par filtration, soit par centrifugation et soumises à un séchage à l'étuve ventilée à 25°C perdent rapidement leur viabilité. Pour obtenir une division permettant une circulation rapide de l'air, le culot humide et pâteux a été passé à travers une presse permettant, avec une très légère pression, de la filer en « spaghetti » de 2 × 30 mm. Le séchage, malgré cette division, demande 48 h. On aboutit à un produit dur et cassant. Les résultats obtenus par cette technique ont été les suivants :

culot de centrifugation, 26,9 p. 100 de matière sèche,
($1,7 \cdot 10^{10}$ spores viables/g · sec)
après séchage à 25°C, (48 h)$9 \cdot 10^{8}$ spores viables/g,
(pourcentage de spores viables après séchage 5,3 p. 100)

Cette forte mortalité peut être imputée à plusieurs causes :

a) durée trop longue du séchage due à une mauvaise circulation de l'air autour des cellules très compactées.

b) Action nocive de l'oxygène de l'air.

c) Éclatement des cellules par suite d'une sortie brutale d'une trop grande quantité d'eau.

Une série de substances furent éprouvées pour réduire ces inconvénients. La durée du séchage peut être réduite en incorporant un excipient inerte très poreux, susceptible d'absorber lui-même l'eau interstitielle entre les cellules sans la retenir fortement. Son rôle est avant tout d'assurer une perméabilité suffisante à l'air de la masse des spores. La cellulose en poudre, la tourbe et la poudre de silice (Clarcel Flo.) furent essayées. La cellulose incorporée aux spores, à raison de 1/1 en poids donne un produit de consistance pâteuse qui nécessite un traitement par filage avant séchage. La durée de cette dernière opération peut alors être ramenée à 30-36 h en étuve ventilée à 25°C. La tourbe broyée possède un pouvoir absorbant pour l'eau un peu plus faible. Il est nécessaire de faire des mélanges spores/tourbe dans le rapport 1/1,5 en poids pour obtenir un produit pulvérulent susceptible d'être séché en 30 h environ.

La poudre de silice possède un pouvoir adsorbant beaucoup plus élevé : incorporée aux spores dans le rapport 1/0,6 en poids, elle donne un produit très pulvérulent qui sèche dans les mêmes conditions en 4 à 5 h.

Il faut toutefois remarquer que cette action est une accélération purement physique de l'évaporation et n'améliore pas la survie des spores pendant le séchage comme le montre l'essai suivant :

mélange 25 g spores + 25 g Clarcel Flo :
matière sèche du mélange 61,8 p. 100 ;
spores viables $5{,}3 \cdot 10^{10}$/g sec.

après séchage à 30°C :
matière sèche 94,8 p. 100 ;
spores viables $2{,}6 \cdot 10^{9}$/g.sec.

Pourcentage de survie après séchage 4,9 p. 100.

La tourbe et la cellulose ont donné des résultats équivalents.

3. 2. *Substances agissant sur la pression osmotique.*

Une amélioration a pu être obtenue en incorporant du saccharose et glutamate de sodium au mélange spore + clarcel. Différentes doses de saccharose ont été expérimentées en présence de 0,1 g de glutamate de Na

Spores (g)	*Saccharose* (g)	*Saccharose/Spores* (en poids)	*Spores viables après séchage* (p. 100)
25	2	0,08	18
25	4	0,16	19
25	7	0,28	37

Il est bien évident que le rapport mutuel des composants du mélange intervient. Ainsi, en présence de saccharose et de glutamate, on peut rechercher quelle est la dose minimale de Clarcel à employer.

Les essais de diverses doses ont donné les résultats suivants avec 4 g de saccharose et 0,1 g de glutamate de Na :

Spores (g)	*Clarcel* (g)	*Clarcel/Spores* (en poids)	p. *100 de survie*
25	17	0,68	14,5
25	23	0,92	34,4
25	30	1,2	39

Un mélange à poids égal de spores à 22 p. 100 d'humidité et de Clarcel donne de bons résultats au séchage. Des essais analogues n'ont pas montré d'optimum pour des proportions spores/glutamate de Na allant de 0,04 à 0,4 en poids. L'action de ce protecteur ne semble pas se situer au niveau du séchage, mais à celui de la conservation de longue durée (voir ci-dessous).

3. 3. *Antioxydants.*

L'effet nocif de l'oxygène au cours du séchage est connu, on pouvait donc s'attendre à une amélioration de la survie par l'addition d'antioxydants. Deux substances ont été essayées : l'ascorbate de Na et un mélange huile de paraffine-glycéride oléique polyoxyéthyléné (Labrafil). Les spores étaient mélangées à du saccharose et du Clarcel dans les rapports respectifs en poids de 0,16 et 1,2. Les résultats obtenus ont été les suivants :

Spores (g)	*Ascorbate Na/Spores* (en poids)	*Survie après séchage* (p. 100)
25	$1 \cdot 10^{-2}$	14
25	$0{,}75 \cdot 10^{-2}$	10
25	$0{,}5 \cdot 10^{-2}$	28
25	$0{,}25 \cdot 10^{-2}$	10

La conservation des souches microbiennes sous huile de paraffine est pratiquée couramment dans les collections. Nous avons cherché à adapter cette technique pour la rendre compatible avec l'utilisation ultérieure du produit.

L'huile de paraffine ne peut enrober les spores issues de la filtration ou de la centrifugation même après mélange avec le Clarcel, le produit obtenu contenant encore trop d'eau. Nous avons résolu la question en incorporant à l'huile de paraffine 10 p. 100 de son poids de Labrafil. On obtient ainsi un mélange gras facilement miscible à l'eau et susceptible de « mouiller » parfaitement les spores. Nous avons trouvé que l'addition de 250 ml de ce mélange à 1 kg de spore à 22 p. 100 d'humidité auquel a été ajouté 1 kg de Clarcel permettait de réaliser un mélange très homogène dans lequel l'huile enrobe les particules de silice, sur lesquelles sont adsorbées les spores.

La formule suivante a permis d'obtenir un taux de survie au séchage voisin de 100 p. 1 000 :

Spores (à 22 p. 100 d'humidité)	1 kg
Clarcel Flo.....	1 kg
250 ml d'une solution contenant :	
Saccharose	200 g
Glatumate de Na	5 g
Huile de paraffine contenant :	
10 p. 100 de Labrafil	250 ml

Une série de 17 cultures portant sur 150 l de milieu chacune ont été traitées par centrifugation, puis séchées en étuve ventilée à 23°-25°C après addition du mélange protecteur ci-dessus. Les résultats ont été les suivants :

— matière sèche 93 à 98 p. 100,
— nombre total de spores viables dans la culture 0,7 à 2,4 10^{14},
— nombre total de spores viables après séchage 0,5 à 2,4 10^{14}.

Le rendement global en spores viables est donc très voisin de 100 p. 100.

4. — *Essais de conservation de longue durée*

Un certain nombre d'échantillons mentionnés ci-dessus ont été contrôlés au cours du temps, la formule assurant la meilleure protection au moment du séchage n'étant pas forcément celle assurant une conservation de longue durée. D'autre part, des essais comparatifs ont été effectués en stockant la préparation déshydratée à 23°C et à 4°C, en sachets plastiques scellés sous air ou en ampoules scellées sous azote. Les résultats sont représentés figures 2, 3 et 4. Les courbes de la figure 2 montrent

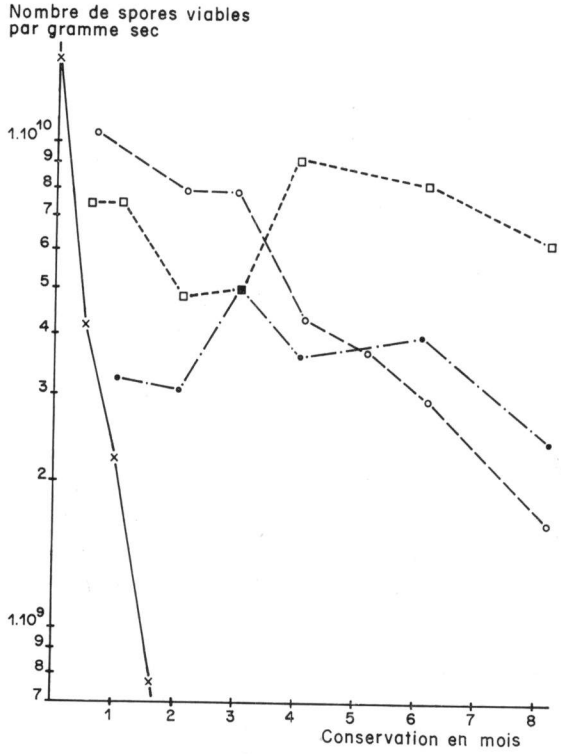


FIG. 2

---●— Spores séchées en présence du mélange complet de protecteurs et conditionnées en sachets plastiques scellés sous air, stockage à 4°C.

--×— mêmes conditions de séchage, conditionnement en sachets plastiques scellés sous air, stockage à 23°C.

- -○- - mêmes conditions de séchage — stockage en ampoules scellées sous azote à 23°C.

—□— mêmes conditions de séchage, stockage en ampoules scellées sous vide à 23°C.

que de bons résultats peuvent être acquis par un conditionnement sous vide ou sous azote. En emballage plastique scellé sous air, la perte de viabilité est rapide. Cet effet peut être compensé par un abaissement de la température à 4°C. Le glutamate de sodium qui n'avait pas d'effet protecteur au séchage semble par contre avoir un effet favorable au cours du temps (fig. 3).

La température de séchage semble susceptible d'avoir un effet important. Ainsi,

nous avons tenté de sécher le mélange spore-protecteur par dessiccation à 4°C. En 36 heures, on obtient une poudre à 81,5 p. 100 de matière sèche, dont la déshydratation est ensuite poursuivie jusqu'à 93,9 p. 100 sous P_2O_5. La conservation de cette préparation est excellente sous vide à 4°C et 23°C comme en témoignent les courbes de la figure 4.

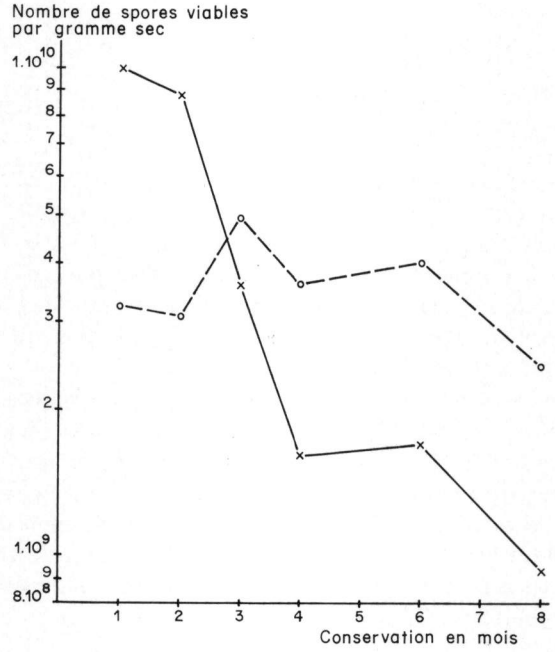


FIG. 3

—o— Spores séchées en présence du mélange complet de protecteurs et conditionnées en sachets plastiques scellés sous air, stockage à 4°C.

—×— mêmes conditions de séchage et stockage — sans glutamate dans le mélange protecteur.

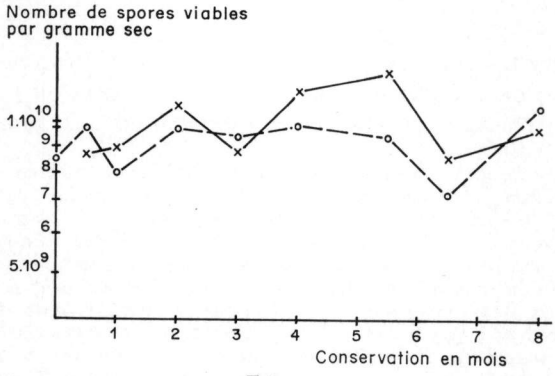


FIG. 4

—o— Spores séchées à 4°C en présence du mélange complet de protecteurs et conditionnées en ampoules scellées sous vide, stockage à 4°C.

—×— mêmes conditions de séchage et conditionnement — stockage à 23°C.

5. — *Viabilité des spores après ouverture des sachets*

Une série de mesures ont été effectuées après ouverture de sachets conservés pendant 1,2 et 3 mois. Les spores étaient alors placées à la température ambiante dans un bocal ouvert à l'abri de la lumière. Dans tous les cas, la perte de viabilité a été très rapide ; seulement environ 1 p. 100 des spores survivaient après 2 mois.

CONCLUSION

Il apparaît de cette étude que la récolte des blastospores à l'échelon industriel par centrifugation ou filtration vers 15°C est facilement réalisable. Un mélange protecteur permet d'effectuer économiquement le séchage par un courant d'air sec ; il est souhaitable que la température de l'air soit aussi basse que possible.

Au cours de la conservation de la préparation, le contact de l'oxygène semble le plus nocif. Cet effet peut être réduit par stockage à 4°C. Une autre solution peut être l'emballage sous vide ou sous gaz inerte.

Le problème le plus important qui subsiste est le devenir des spores au moment où elles sont épandues sur le sol. Nos essais montrent qu'elles perdent rapidement leur viabilité au contact de l'air. Dans les conditions naturelles, ces spores ne doivent probablement subsister qu'en profondeur où la teneur en oxygène est très faible. Il semble alors indispensable que les spores rencontrent au moment de leur emploi des conditions permettant leur germination si l'on veut éviter leur destruction rapide. La solution à ce problème écologique apparaît indispensable pour permettre une application pratique de cette préparation entomopathogène.

Reçu pour publication en juillet 1972.

SUMMARY

STUDIES ON THE FORMULATION AND CONSERVATION OF AN ENTOMOPATHOGENOUS PREPARATION OF BLASTOSPORES OF *BEAUVERIA TENELLA* (DELACR. SIESMASZKO)

Technological studies have been developed on the optimal conditions of formulation of an experimental preparation of blastospores of the entomopathogenous fungus *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO, obtained in a 250 liters fermentor, in view of ensuring as long as possible a viability of the spores. After a five days fermentation at 23°C the blastospores are harvested, either by filtration (yield of viable spores : 60 p. 100) or by centrifugation (yield of viable spores : almost 100 p. 100). In order to help the drying of the paste thus obtained, several inert materials (cellulose powder, peat or silica powder) have been blended with it. With the silica powder, the drying time is reduced to 4 or 5 hours in a ventilated drying closet at 25°C, but it is better to process at a lower temperature. By adding materials active on the osmotic pressure, such as sucrose and sodium glutamate, and anti-oxydizing agents such as sodium ascorbate and a mixture of liquid paraffin-polyoxyethylene glyceryl oleate, the survival rate of blastospores after drying is about 100 p. 1000. Finally the following formulation : 1 kg blastospores at 22 p. 100 humidity, 1 kg silica powder, 250 ml of a solution containing 200 g sucrose and 5 g sodium glutamate, 250 ml

of liquid paraffin containing 10 p. 100 polyoxyethylene gylceryl oleate was chosen. The preparation thus achieved is stored either in vacuum — sealed plastic bags, or in nitrogen — sealed bulbs. When the preparation has been dried at 4°C an excellent conservation of the blastospores preparation is achieved even after 8 months storing. It is still rather good when dried in a ventilated drying closet at 25°C when the preparation bagged is under vacuum or nitrogen and stored at 4°C.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CATROUX G., CALVEZ J., FERRON P., BLACHÈRE H., 1970. Mise au point d'une préparation entomopathogène à base de blastophores de *Beauvaria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO pour la lutte microbiologique contre le ver blanc (*Melolontha melolontha* L.). *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, **2**, 281-294.

KLOCHKO M. D., 1970. Influence de diverses concentrations d'amidon et de farine de soja sur la croissance et la formation de spores chez le champignon entomopathogène *Beauveria tenella* (DEL.) *Siem. Mycol. Phytopath* , **4**, 538-541 (en russe).

POCHON J., 1954. *Manuel technique d'analyse microbiologique*, Masson édit., p. 23.

SAMŠIŇÁKOVÁ A., 1964. Sporengewinnung von *Beauveria bassiana* (BALS.) Vuill'aus Submerskulturen. *Naturwissensch.*, **51**, 121-122.

SAMŠIŇÁKOVÁ A., 1966. Growth and sporulation of submersed cultures of *Beauveria bassiana* in various media. *J. invert. Pathol.*, **8**, 395-400.

TELENGA N. A. et GORAL V. M., 1966. Nouveauté dans la culture du champignon de la muscardine blanche en milieu liquide. *Conf. Samarcande, Iz. Fan. R. S. S. Uz., Tachkent*, 171-173 (en russe).

ZAKHARCHENKO N. L., 1967. Procédé technologique du développement de *Beauvaria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN dans les conditions semi-industrielles par des méthodes combinées. *Zachtchita rast.*, Kiev, **4**, 134-138 (en russe).

ZAKHARCHENKO N. L., PRIMAK T. A., GORAL V. M., 1963. La production semi-industrielle du champignon de la muscardine dans un milieu nutritif liquide. in : *Coloradski jouk ta novi metody borot'by z nym. Naouki pratsi*, 12 Derjsilhosprydov. Kiev. 102-106 (en ukrainien).

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 81-97.

ACTION DU VIRUS DE LA DENSONUCLÉOSE SUR LA FORMATION DES ORGANES GÉNITAUX ET LA GAMÉTOGENÈSE DU LÉPIDOPTÈRE *GALLERIA MELLONELLA* L.

N. BOEMARE

avec la collaboration technique de Mme N. BRES

Station de Recherches de Cytopathologie, I. N. R. A., 30380 Saint Christol les Alès

RÉSUMÉ

L'étude histopathologique d'un insecte, le Lépidoptère *Galleria mellonella* L., a permis de déterminer dans quelle mesure les cellules sexuelles peuvent être altérées par un Parvovirus : le virus de la Densonucléose (VDN).

Les résultats obtenus après inoculation de larves de dernier stade, juste avant la nymphose, avec des suspensions diluées en progression géométrique de raison 1/10, montrent que pour des doses supérieures à 10^4 DL_{50}/larve, les individus sont bloqués au stade prénymphal tandis que leurs gonades se développent encore un certain temps. Pour des doses inférieures à 10^4 DL_{50}/larve, la maladie peut se déclarer après la mue nymphale. Dans ce dernier cas, les gonades poursuivent un développement plus important tandis que la quasi-totalité de la gamétogenèse se déroule. Tous ces cas sont rencontrés dans les lots infectés par voie buccale.

Les gamètes ne sont pas lésés, quel que soit le sexe. Lorsque les nymphes sont très infectées, seules les cellules comparses des gamètes (trophocytes et cellules folliculeuses) et celles qui ne sont pas entrées en méiose ont des altérations nucléaires. L'intégrité des cellules sexuelles est donc conservée. Au stade prénymphal, lorsque l'ovaire est encore juvénile, les ovogonies peuvent être altérées, sauf pour les quelques cellules en méiose. Les prénymphes et les nymphes infectées ne peuvent pas donner des adultes. Même si les gamètes sont exempts de lésions, la fécondation ne pourra donc avoir lieu. Cependant, on ne peut exclure l'hypothèse de la présence de virions dans les cellules sexuelles sans lésions décelables à l'examen histopathologique. Cette remarque est également valable pour les individus oligoinfectés qui semblent échapper à l'infection et qui sont à l'origine d'une descendance.

INTRODUCTION

Divers mécanismes permettent aux agents des maladies infectieuses de persister dans la nature. Ainsi, certains germes pathogènes des Insectes résistent aux conditions défavorables du milieu (bactéries sporulées, corps d'inclusions des virus des polyédroses et des granuloses) et la rencontre avec l'hôte sensible est régie par les

lois du hasard. Cette résistance du germe, jointe à des actions écologiques propices au déclenchement de la maladie, explique certaines épizooties. Dans d'autres cas, surtout relatifs aux virus, le germe est présent chez l'hôte sensible en concentration subléthale ou dans un état momentanément non infectieux que l'on peut mettre en évidence par des agents inducteurs agissant sur le métabolisme de l'hôte. Dès lors une étude de la résistance des différentes cellules de l'organisme de l'Insecte est essentielle et en particulier celle de la lignée germinale.

En raison de la relative indépendance de la formation des gonades et de leurs gamètes, la réceptivité des cellules germinales à l'action d'un virus constitue donc un sujet qu'il convient de distinguer de la sensibilité des tissus somatiques. De plus, la détermination du degré de résistance des cellules sexuelles introduit l'étude des effets d'une maladie virale sur la descendance des géniteurs infectés à faibles doses. Ces observations ont une importance accrue puisqu'elles peuvent s'étendre à d'autres Parvoviroses et en particulier à celle observée chez *Junonia coenia* HUBNER où le virus responsable a un spectre de virulence beaucoup plus étendu puisqu'il peut affecter diverses espèces de Noctuelles nuisibles.

La présente étude concerne donc la description des lésions provoquées par une maladie virale, hautement infectieuse, la densonucléose, sur la formation des organes génitaux et la gamétogenèse de l'insecte sensible, le Lépidoptère *Galleria mellonella* L. L'agent responsable de cette virose (VDN) que l'on rattache au groupe des Parvovirus, est un petit virus à ADN mesurant 20 nm. (VAGO *et al.*, 1964 ; 1966). Après coloration nucléaire de Feulgen de coupes d'animaux infectés, on observe des noyaux très hypertrophiés et intensément colorés par la réaction (noyaux denses). Ces plages Feulgen positives résultent de l'agglomération de particules virales isométriques. La robustesse de l'agent infectieux a été soulignée à propos de sa résistance à la chaleur et aux solvants des lipides particulièrement étonnante pour un virus libre (BOEMARE *et al.*, 1970).

La brièveté de la vie adulte de l'Insecte-hôte, explique que la gamétogenèse se réalise, pour l'essentiel durant la métamorphose (LENDER et DUVEAU-HAGEGE, 1963). A la mue imaginale les œufs prêts à la ponte représentent déjà le tiers environ de la production des femelles (ALLEGRET, 1966). Cette étude fait donc suite à une communication antérieure concernant la réplication du VDN au cours de la métamorphose de *Galleria* (BOEMARE et BRES, 1969), puisque la gamétogenèse est concomitante de la métamorphose.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. — *Purification du virus*

La souche virale provient de la collection de microorganismes pathogènes aux Invertébrés de la Station de Recherches Cytopathologiques de Saint-Christol. Nous avons employé la technique de TRUFFAUT *et al.* (1967) pour la purification du matériel obtenu après inoculation massive de *Galleria*.

2. — *Titrage de la suspension purifiée*

Le titrage est réalisé au moyen de dilutions de la suspension purifiée de VDN en progression géométrique de raison 1/10. Chaque dilution est inoculée à un lot de larves saines, prêtes

à la nymphose. La mortalité est relevée au stade nymphal ou prénymphal et le titre du virus est estimé selon la méthode de REED et MUENCH (1938). La suspension-mère, ici utilisée, titre $0,5 \cdot 10^9$ DLi_{50}/ml (DLi_{50} = dose léthale imaginale 50 p. 100).

3. — *Inoculation des larves prêtes à la nymphose*

Un papier filtre froissé est disposé au sommet du bocal d'élevage, ce qui offre une certaine commodité aux larves pour filer entre les plis (ALLEGRET, 1956). Quelques jours plus tard on recueille le papier filtre et les larves qui s'y trouvent. Ces individus doivent effectuer leur mue nymphale, à l'exclusion naturellement de toute action virale, 3 à 5 jours plus tard comme on peut l'observer dans les lots témoins. On détient ainsi des *Galleria* d'âge homogène qui, 7 à 8 jours après la mue nymphale doivent subir la mue imaginale. L'inoculation des différentes doses de virus à raison de $17 \cdot 10^{-3}$ml par larve, est effectuée dès le prélèvement des larves dans le papier filtre

4. — *Infection per os*

L'obtention de larves infectées par voie buccale est nécessaire pour se rapprocher des conditions naturelles. Comme la nourriture infectieuse ingérée est variable en quantité, les résultats obtenus sont interprétés à la lumière de ceux enregistrés après l'injection d'une dose définie.

Il faut choisir des larves de dernier stade en fin d'alimentation, mais susceptibles d'accepter encore de la nourriture. Celles qui se sont rassemblées dans le papier filtre sont donc impropres à cette exigence puisqu'elles ne mangent plus. On prélève des individus dont la taille, le poids et la vivacité sont des signes prémonitoires d'une montée prochaine. Ils sont isolés et nourris sur un substrat infectieux préparé à partir de pollen broyé avec de la suspension de virus purifié. 24 à 48 heures plus tard les larves ne tardent pas à monter pour le filage.

5. — *Conduite des expériences*

Les élevages de *Galleria* sont réalisés à 28°C, 40 p. 100 d'HR et à l'obscurité. Les individus injectés ou infectés per os, sont maintenus dans de petits bocaux isolant les différents lots les uns des autres.

Deux lots témoins sont constitués : l'un sans injection pour la comparaison avec l'évolution normale ; l'autre après injection de sérum physiologique stérile.

6. — *Méthodes histologiques*

Les prélèvements quotidiens sont fixés aux liquides de Helly ou de Carnoy. Après déshydratation, les pièces sont incluses dans la paraffine 54-56°C. La fixation et l'inclusion ont lieu sous vide dans le cas des nymphes.

De nombreuses colorations usuelles de l'histologie animale ou de l'histochimie (LISON, 1960 ; MARTOJA et MARTOJA-PIERSON, 1967) peuvent avoir une valeur d'identification histopathologique. Elles ont été employées aussi bien chez les individus malades que chez les témoins. Les coupes ont été colorées, le plus souvent, selon la méthode de Feulgen-Rossenbeck. Une coloration d'acide nucléique, complémentaire de la précédente, a été également utilisée : l'acridine orange avec examen en fluorescence. La coloration de Danielli ou tétrazoréaction convient à la fois pour suivre l'évolution des protéines des tissus et mettre en évidence la protéine virale, bien que la coloration ne soit pas spécifique à cet égard. Cependant, les noyaux denses sont intensément différenciés par cette réaction.

Les microphotographies des coupes histologiques ont été prises sur un microscope photonique Leitz Orthoplan avec contrôle automatique de l'exposition. Puisque la technique de base dans l'étude *in situ* des amas de virus à ADN est la coloration de Feulgen-Rossenbeck, c'est cette dernière qui a été choisie pour l'illustration.

ÉVOLUTION NORMALE DES APPAREILS GÉNITAUX

Pour comprendre les altérations cellulaires et l'implantation progressive du virus dans les différentes cellules au cours de la gamétogenèse, il est nécessaire de rappeler

le développement des gonades et l'évolution normale des cellules germinales. Nos observations permettent de retrouver les résultats d'études antérieures dont nous donnons un bref résumé.

A. — *Appareil génital femelle*

Lors de la mue nymphale les ovaires se sont allongés et sont constitués de huit gaines ovigères que sépare un conjonctif de la cavité viscérale. Les oviductes se différencient au stade nymphal (WOLBERT, 1969).

Si l'on suit l'évolution des cellules germinales depuis l'apex d'une ovariole, on observe d'abord des mitoses goniales dans la zone des ovogonies et des cellules folliculeuses. A la suite des ovogonies succède l'aire de formation des ovocytes en activité depuis la chenille de dernier stade jusqu'à l'imago (DUVEAU-HAGEGE *et al.*, 1963). Puis, on peut distinguer la zone de différenciation des ovocytes et des cellules nourricières (trophocytes) que l'on observe tout spécialement au début du stade nymphal. Les follicules s'individualisent ensuite. Chaque follicule comprend quelques trophocytes et l'ovocyte entourés par une assise de cellules folliculeuses. Les ovocytes entrent en phase de grand accroissement chez les chrysalides et les imagos. Vers la fin de la vitellogenèse, les trophocytes régressent, les cellules folliculeuses sécrètent le chorion et un certain nombre d'ovocytes entrent en métaphase de 1re division de maturation. Après la mue imaginale, pendant la ponte des œufs, la vitellogenèse s'achève dans les ovocytes encore immatures. Le chorion est mis en place pour une forte proportion d'entre eux (ALLEGRET, 1966).

La production des ovaires de *Galleria* est uniforme. Lorsqu'une gonade est déficiente, l'autre peut assurer la suppléance. A l'inverse des greffes surnuméraires d'ovaires montrent qu'il y a égalité quantitative dans la production des œufs (ALLEGRET, 1969). « L'ovocyte, ses cellules folliculeuses et ses trophocytes évoluent suivant une loi du tout ou rien » (ALLEGRET, 1968). Le fonctionnement ovarien est relativement indépendant de l'organisme de *Galleria*. Une survie et une différenciation des cellules sexuelles est d'ailleurs possible en culture organotypique d'ovaires (LENDER et DUVEAU-HAGEGE, 1963). JOLY (1968), remarque que les ovaires des Lépidoptères à vie imaginale courte sont nécessairement adaptés à se développer dans un milieu humoral pauvre en hormone juvénile, tel celui de la métamorphose.

Deux périodes doivent être distinguées dans l'évolution de la lignée germinale chez *Galleria* (ALLEGRET et PANON, 1969 ; ALLEGRET, 1969). Celle correspondant à la multiplication des ovogonies s'étend de la vie larvaire au début de la nymphose. La deuxième correspond à la vitellogenèse et à la mise en place du chorion. PRZELECKA (1967) a montré que le métabolisme des acides nucléiques et des lipides était intense en période de prévitellogenèse dans les follicules, alors que la synthèse des protéines allait en diminuant au profit d'une absorption directe de celles-ci par pinocytose pendant la vitellogenèse. Ces remarques nous éclaireront sur le mode d'implantation du virus à ce niveau.

B. — *Appareil génital mâle*

Les testicules sont formés d'utricules le long desquels mûrissent les cellules sexuelles. Ils sont enveloppés par une gaine conjonctive. Des mitoses sont observables dans les ébauches des canaux déférents au début du stade nymphal.

La zone germinative contient des gonies mères et des spermatogonies nombreuses en phase de multiplication. Ce germarium est entouré de spermatocytes de 1er ordre en prophase de division de maturation qui se groupent pour former des cystes. Ceux-ci, après isolement, contiennent des cellules sexuelles dont les figures de méiose sont au même stade de division. La spermiogenèse se réalise au cours du stade nymphal.

Des cultures organotypiques de testicules peuvent donner naissance à une différenciation jusqu'aux spermatozoïdes dans la mesure où les gonades explantées contenaient des spermatocytes en prophase de division hétérotypique (LENDER et DUVEAU-HAGEGE, 1963). La scission en deux périodes séparées par cette prophase, de signification différente, est similaire à l'évolution femelle.

ÉTUDE HISTOPATHOLOGIQUE

Nous avons mis antérieurement en évidence une inhibition de l'ecdysis larvo-nymphale dans les lots inoculés avec de fortes doses de VDN et la possibilité d'obtenir des nymphes infectées dans les lots inoculés avec des doses moyennes (BOEMARE et BRES, 1969). En conséquence, il y a lieu d'envisager l'étude du développement des gonades dans ces deux cas.

A. — *Gonades des prénymphes « permanentes »*

Il s'agit d'individus inoculés avec des doses de virus supérieures à 10^4 DLi_{50}/larves et pour les larves infectées per os, celles ayant ingéré une quantité de matériel infectieux probablement aussi importante. Alors que les lots témoins effectuent leur mue nymphale 3 à 5 jours après le choix ou l'inoculation de sérum physiologique, ces individus persistent dans un état larvaire ou prénymphal prolongé.

a) *Développement ovarien.*

Malgré une forte infection dans la plupart des tissus des autres organes, le développement ovarien va se poursuivre en partie dans ces individus conservant l'apparence larvaire ou prénymphale. Les ovarioles s'individualisent dans la cavité générale et elles commencent à s'allonger.

1. *Tissus somatiques.*

Les noyaux des gaines conjonctives sont atteints les premiers, lorsque les cellules du corps adipeux sont à un degré avancé de la maladie (6e jour après l'infection).

2. *Cellules germinales.*

Malgré le développement de la maladie, la multiplication des gonies n'est pas gênée dans un premier temps. Lorsque la plupart des organes se trouvent bloqués dans leur évolution à un stade correspondant à la période prénymphale, les ovarioles, au contraire, poursuivent un développement propre à la chrysalide. Dans le cas où les individus survivent longtemps au stade prénymphal, on peut même observer des follicules en prévitellogénèse où les ovocytes sont en phase de petit accroissement. Mais ceci ne se rencontre que rarement. La vitellogenèse ne parvient, en aucun cas, à se réaliser.

Vers la fin du processus morbide, lorsque ces individus, arrêtés dans leur développement, vont mourir, il est possible d'observer des noyaux denses au niveau du germarium (8e jour après l'infection). Toute la zone germinative est alors infectée. Cependant les quelques ovocytes entrés en prophase de division hérétotypique résistent à l'infection et ne présentent aucune lésion.

b) *Développement testiculaire.*

Comme pour la gonade femelle, les testicules vont poursuivre leur évolution, alors que le reste de l'organisme des *Galleria* contient des organes dont le développement est arrêté au stade prénymphal à l'exception de l'intestin moyen. (BOEMARE et BRES, 1969.)

1. *Tissus somatiques.*

Si l'on se repère par rapport au degré d'infection du corps adipeux, ce n'est que lorsque celui-ci est largement altéré, que des noyaux denses sont également visibles dans les gaines conjonctives.

2. *Cellules germinales.*

La multiplication des gonies n'est pas altérée. L'organisation cystaire se produit. Les diverses étapes des divisions hétérotypique et homotypique sont également visibles. La spermiogenèse est parfois observée pour des individus bloqués au stade prénymphal et qui survivent plus longtemps. Nous n'avons pas rencontré des prénymphes bloquées de sexe mâle présentant des lésions au niveau de la zone germinative de la gonade ou dans les cystes. Les cellules germinales mâles semblent donc impropres à la réplication du virus. Toutefois, dans le cas des nymphes infectées de sexe mâle, des exceptions seront rencontrées.

B. — *Gonades des nymphes infectées*

Chez ces individus, l'étude histopathologique prend tout son sens puisque l'ensemble de la gamétogenèse se produit au stade nymphal. Les spécimens fixés quotidiennement sont prélevés dans les lots inoculés avec des suspensions virales inférieures à 10^4 DLi_{50}/larve ayant donné des nymphes où la maladie se déclare après la mue nymphale. Dans le cas des infections per os, ce sont les individus ayant ingéré une quantité moindre de matériel infectieux équivalente approximativement à des doses inférieures à 10^4 DLi_{50}/larve, et qui ont pu effectuer leur mue nymphale. On note, dans l'ensemble, un certain retard dans l'apparition de ces nymphes par rapport aux lots témoins.

a) *Développement ovarien.*

1. *Tissus somatiques.*

La gaine conjonctive de la gonade présente des noyaux denses lorsque le tissu adipeux est altéré. Les voies génitales sont également un site de réplication virale.

2. *Cellules germinales.*

Lorsque les dommages sont étendus dans tous les tissus, la zone germinative des ovaires peut être affectée par la maladie. Une coupe longitudinale (fig. 3 *a* et 3 *b*) montre une attaque plus grande de la zone germinative que celle des cellules entrant

en prophase de division hétérotypique. Il semble même que, lorsque les ovocytes sont entrés en division, ils résistent à l'infection virale. En effet, les étapes de la division hétérotypique, la séparation des ovocytes, des trophocytes et des cellules folliculeuses, s'opèrent sans que l'on puisse observer des noyaux denses dans ces cellules. Cependant dès que ces trois types de cellules sont définis et s'organisent pour former le follicule, on peut à nouveau remarquer une atteinte virale. Elle se situe au niveau des cellules folliculeuses (fig. 1 et 2 Pl. I) où l'on note de grandes masses denses dans les noyaux, et parfois même dans le noyau des trophocytes (fig. 1). L'ovocyte seul ne présente pas de lésion dans ce cas. Ces différentes images histologiques ne sont visibles que dans les nymphes fortement atteintes.

La vitellogenèse et la phase de grand accroissement des œufs s'accomplissent dans une certaine mesure. Mais le chorionnage des œufs est inexistant. Ceci s'explique par le fait que cette étape précède de peu l'émergence de l'adulte et que les nymphes infectées ne peuvent parvenir jusqu'à ce stade.

b) *Développement testiculaire.*

1. *Tissus somatiques.*

La gaine conjonctive de la gonade (fig. 4 et 5 Pl. II) est un tissu propre à la réplication virale. Dans le canal déférent, les diverses étapes de la densification nucléaire, dues à l'agrégation des virions dans le noyau, sont particulièrement observables (fig. 7, Pl. II).

2. *Cellules germinales.*

A un degré de résistance plus accentué, la lignée germinale mâle présente les mêmes caractéristiques notées à propos de l'étude histopathologique de l'organe femelle. Cependant, pour parvenir à cette conclusion, il a été nécessaire d'étudier de nombreuses coupes de nymphes mâles très infectées. On se souvient que les prénymphes mâles, dites « permanentes », ne présentaient pas de lésions au niveau du germen, alors que les prénymphes femelles de la même catégorie ont des cellules altérées dans la zone préméiotique; il a fallu envisager des cas très avancés dans la pathogenèse. En dehors de ceux-ci, le germen n'est pas affecté par le VDN chez les mâles. Cependant on note une certaine désorganisation du tapis cellulaire de la zone germinative (fig. 5). Ailleurs, les phases normales de la méiose sont observables dans les cystes en formation (fig. 6, Pl. II, fig. 8, 10, 11, Pl. III). La spermiogènèse (fig. 9, Pl. III) se réalise également sans difficulté.

A un stade avancé de la maladie, peu avant la mort, on voit une infection de la zone germinative de la gonade mâle (fig. 13 *a* et 13 *b*, Pl. IV) jointe à une dégénérescence accrue dans la zone des spermatocytes de 1er ordre (fig. 12 *a* et 12 *b*, Pl. IV). Mais la suite de la méiose, de l'organisation cystaire et de la spermiogenèse reste normale. Il apparaît ainsi que lorsque le germen est affecté, seule une infection avant la différenciation est possible.

DISCUSSION

Une infection des gaines conjonctives et de quelques cellules germinales, observée sur des gonades juvéniles de différents stades larvaires de *Galleria*, a été signalée par GARZON et KURSTAK (1968). Nos résultats confirment cette observation mais notre

étude, opérée sur des prénymphes et des chrysalides, concerne une infection provoquée au moment de la gamétogénèse qui permet de définir les types cellulaires sensibles au virus. Ceci ne pouvait être réalisé sur des chenilles infectées puisque durant cette période de la vie de l'Insecte le germen est constitué seulement par des gonies qui se multiplient sans entrer en méiose.

Ainsi pour des doses supérieures à 10^4 DLi_{50}/larve, les individus inoculés avant la métamorphose n'effectuent pas de mue nymphale. L'ensemble du développement des organes est stoppé alors que l'évolution des gonades se poursuit en partie.

Pour des doses inférieures à 10^4 DLi_{50}/larve les individus inoculés avant la métamorphose peuvent donner des chrysalides où la maladie va s'implanter progressivement. Dans ce cas, la totalité des étapes de la gamétogenèse peut s'observer mais la vitellogenèse s'amorce seulement.

Dans tous les cas étudiés, ce n'est que lorsque la maladie est assez avancée que se produit la réplication virale dans les gaines conjonctives des gonades et les territoires annexes, tels les oviductes ou les canaux déférents.

Nous avons constaté qu'il faut attendre un degré d'atteinte prononcé dans tous les tissus somatiques, sensibles au virus, pour que la maladie s'observe dans les jeunes cellules germinales non différenciées. La lignée mâle est encore plus résistante à cet égard que la lignée femelle. On peut même affirmer qu'il s'agit, pour les mâles, de cas exceptionnels.

La différenciation sexuelle débute avec la méiose. Seules, les spermatogonies et les ovogonies peuvent être infectées. Lorsque l'ovocyte est entré en prophase de 1re division, ou le spermatocyte, leur sensibilité à l'action virale est nulle. Plus loin, les lignées adjacentes à l'ovocyte en cours d'accroissement peuvent être à nouveau un site pour la réplication virale. Ce sont les cellules folliculeuses, puis les cellules trophocytaires. Les gamètes des deux sexes sont histologiquement inaltérés.

A la distinction en deux périodes séparées par la prophase de division hétérotypique, correspond deux modes d'infection : une infection généralisée des ovogonies et des spermatogonies possible ; une infection des cystes et des gamètes impossible. Aux deux périodes à signification physiologique différente, on observe deux réponses opposées de l'implantation virale dans les cellules germinales.

Vraisemblablement, il faut un métabolisme cellulaire polyvalent pour la réplication du VDN (Boemare et Bres, 1969). Ainsi, les cellules de la zone germinative qui n'ont pas acquis un degré de spécialisation poussé répondent encore à cette exigence, tandis que les cellules sexuelles auxquelles elles donnent naissance s'en écartent. Les trophocytes et les cellules folliculeuses ont une activité métabolique importante (nutrition de l'œuf et élaboration du chorion). La réplication du VDN s'y rencontre justement au cours de la période de leur plus grande activité métabolique (prévitellogenèse) où la synthèse des acides nucléiques et des protéines est importante (Przelecka, 1967). Si dans l'ensemble, la vitellogenèse se réalise mal dans les nymphes infectées, c'est en raison du fonctionnement particulier de cette période. Le follicule puise alors directement des protéines dans le milieu intérieur. Or, ce dernier se trouve alors très altéré par la maladie et ne peut offrir que des ressources minimes. De plus comme les cellules folliculeuses sont à leur tour lésées il est fort improbable que de telles réserves puissent être puisées pour la constitution du vitellus.

Enfin, l'indépendance relative des fonctions ovarienne et testiculaire vis-à-vis des corrélations interorganiques de la métamorphose, explique que même dans un

organisme grandement infecté, les gonades continuent d'évoluer (en particulier chez les prénymphes bloquées). La « loi du tout ou rien « d'ALLEGRET (1968) s'illustre par le fait que jusqu'à épuisement complet de l'organisme, la gamétogenèse se déroule, même lorsque les enveloppes somatiques des gonades sont grandement altérées.

En ce qui concerne les nymphes apparemment saines que l'on peut obtenir des lots inoculés aux plus faibles concentrations, on ne peut exclure l'hypothèse de la présence de la maladie sous une forme dissimulée. Dans la variabilité des souches virales génétiquement différentes qui sont à l'origine de la suspension purifiée, il peut exister une souche (surtout pour les dilutions élevées), qui infecte les nymphes apparemment saines sans qu'aucune technique ne permette de déceler cela, hormis la sérologie dans certains cas. Cette recherche entre dans le cadre des études en cours.

Reçu pour publication en juillet 1972.

SUMMARY

ACTION OF THE DENSONUCLEOSIS VIRUS ON THE FORMATION OF GENITAL ORGANS AND THE GAMETOGENESIS OF *GALLERIA MELLONELLA* L., *LEPIDOPTERA*

Histopathological studies of *Galleria mellonella* infected with a Parvovirus : the Densonucleosis Virus (DNV) enabled us to determine to what extent the sexual cells could be affected.

Last instar larvae were incubated just before pupation with purified virus dilutions(ratio 1/10). With doses superior to 10^4 LD 50/larva the growth was stopped in the prepupal stage while the gonads developed for some time yet. The disease could break out after the pupal molt in insects inoculated with dilutions below 10^4 LD 50/larva. In this last case, the development of gonads was more important whereas the gametogenesis occured almost completely. Both cases were found with larvae infected *per os*.

The gametes were not injured whatever the sex might be. When the pupae were heavily infected only the cells associated to gametes (trophocytes and follicule cells) and the cells not yet in meiosis showed lesions. During the prepupal stage, when the ovaries were still young, alterations of the ovogonies could be observed except for some cells already in meiosis. Infected pupae and prepupae could not develop into imagos. Thus, even if the gametes did not show any lesions fertilization could not occur. However, the presence of virions in sexual cells cannot be excluded, although the histological examination did not show any lesions. This remark is also valid for oligoinfected insects which did not seem to be affected by the virus and had a progeny.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALLEGRET P., 1956. *Étude des glandes séricigènes des larves de Lépidoptères. Leur rôle dans la physiologie du développement.* Thèse Fac. Sci. Paris.

ALLEGRET P., 1966. Observations et données expérimentales sur le fonctionnement des ovaires chez l'adulte de *Galleria mellonella* L. (Lépidoptère Pyralidae). *C. R. Soc. Biol., Fr.*, **160**, 1939-1944.

ALLEGRET P., 1968. Action de l'alimentation larvaire sur le fonctionnement ovarien chez un Lépidoptère, *Galleria mellonella* L. (Pyralide). *C. R. Soc. Biol., Fr.*, **162**, 971-975.

ALLEGRET P., 1969. Étude du fonctionnement ovarien par l'utilisation de greffes asynchromes d'ovaires sur des larves femelles non castrées du Lépidoptère pyralide *Galleria mellonella* L. *C. R. Acad. Sc., Paris, Fr.*, sér. D., 2132-2135.

ALLEGRET P., PANON G., 1969. Essai d'étude du fonctionnement ovarien par la technique des greffes chez le Lépidoptère pyralide *Galleria mellonella* L. *C. R. Acad. Sc. Paris, Fr.*, **268**, sér. D., 397-400.

BOEMARE N., BRES N., 1969. Développement du virus de la densonucléose au cours de la métamorphose de son hôte, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera). *Ann. Zool. Ecol. animale, Fr.*, **1**, 309-320.

BOEMARE N., VEYRUNES J. C., CROIZIER G., 1970. Contribution à la connaissance des propriétés du virus de la densonucléose. *Entomophaga, Fr.*, **15**, 327-332.

DUVEAU-HAGEGE J., LENDER Th., SAUZIN M., 1963. Données sur l'ovogenèse de *Galleria mellonella*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **88**, 422-431.

GARZON S., KURSTAK E., 1968. Infection des cellules des gonades et du système nerveux de *Galleria mellonella* par le virus de la densonucléose. *Naturaliste canad.*, **95**, 1125-1129.

JOLY P., 1968. Endocrinologie des insectes, 217-218. Masson et Cie, Paris.

LENDER Th., DUVEAU-HAGEGE J., 1963. La survie et la différenciation en culture *in vitro* des gonades de larves de dernier âge de *Galleria mellonella* (Lépidoptère, Pyralididae). *Developt. Biol., U. S. A.*, **6**, 1-22.

LISON L., 1960. *Histochimie et cytochimie animales* Principes et méthodes 2 vol., 1-842, 3e édit. Gauthier-Villars, Paris.

MARTOJA R., MARTOJA-PIERSON M., 1967. *Initiation aux techniques de l'histologie animale*, 1-345, Masson et Cie, Paris.

PRZELECKA A., 1967. Developmental changes in the cellular distribution pattern of some deshydrogenases in the ovarioles of *Galleria mellonella*. *Folia Histochem. Cytochem.*, **5**, 27-32.

REED L., MUENCH H., 1938. A simple method of estimation fifty per cent endpoints. *Amer. J. Hyg., U. S. A.*, **27**, 495-497.

TRUFFAUT N., BERGER G., NIVELEAU A., MAY P., BERGOIN M., VAGO C., 1967. Recherches sur l'acide nucléique du virus de la Densonucléose du Lépidoptère *Galleria mellonella* L. *Arch. ges. Virusforsch., Osterr.*, **21**, 469-474.

VAGO C., DUTHOIT J. L., DELAHAYE F., 1966. Les lésions nucléaires de la virose à noyaux denses du Lépidoptère *Galleria mellonella*. *Arch. Virusforsch. Osterr.*, **18**, 344-349.

VAGO C., MEYNADIER G., DUTHOIT J. L., 1964. Étude d'un nouveau type de maladie à virus chez les Lépidoptères. *Ann. Épiphyties, Fr.*, **15**, 475-479.

WOLBERT R., 1969. Die Schlüpfrate der groben Wachsmotte, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae), nach einer Röntgenbestrahlung, einer Verwundung und kombinierter Belastung im Puppenstadium. *Wilhelm Roux'Archiv. Entwmech. Org., Dtsch.*, **164**, 134-169.

PLANCHE I

Ovogenèse et replication

FIG. 1

Nymphe (N'8) 11 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe longitudinale d'un follicule (× 1 100). Noyaux denses dans les cellules folliculeuses (*ndf*) et noyau d'un trophocyte en cours de densification (*ndt*).

FIG .2

Un autre follicule du même individu (× 1 100). Les noyaux des trophocytes (*tr*) sont fortement Feulgen positifs, ce qui correspondrait à un état encore normal propre à cette période. L'ovocyte (*ov*) est intact. Les cellules folliculeuses sont atteintes.

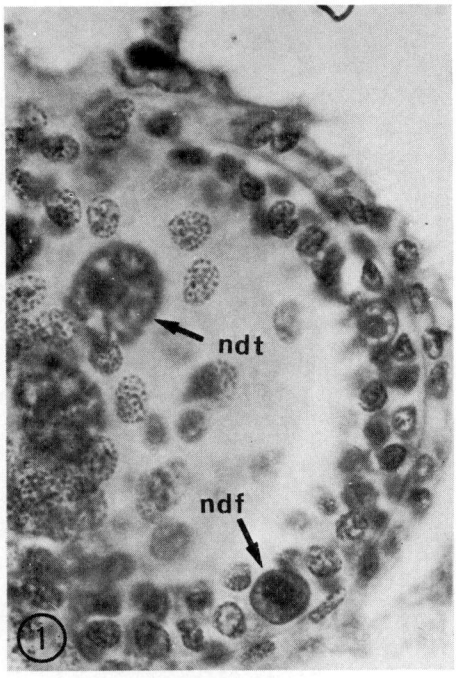
FIG. 3 *a*

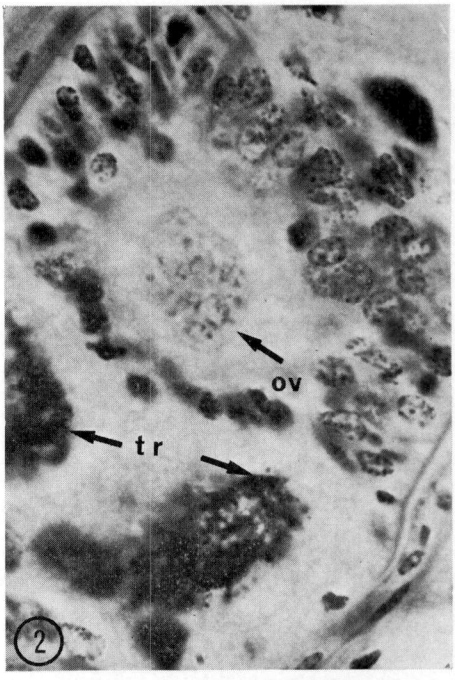
Même individu. Coupe longitudinale de l'apex de la gonade. Les cellules de la gaine conjonctive ainsi que de nombreuses ovogonies ont des noyaux denses. G : zone germinative infectée ; M : zone méiotique (début de la mitose réductionnelle-stade en bouquet).

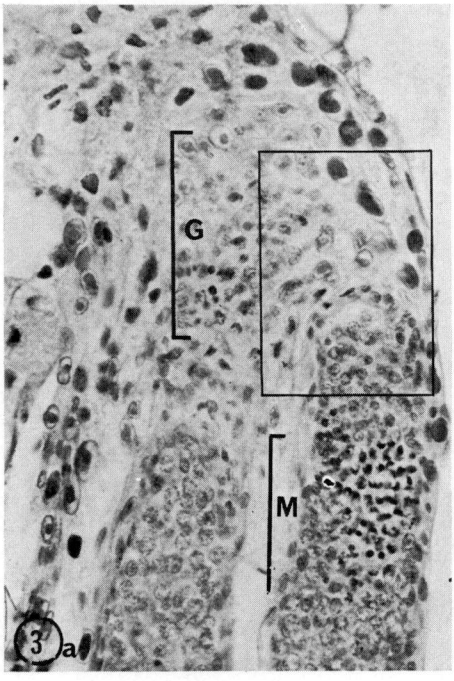
FIG. 3 *b*

Détail de la figure 3 *a* (× 1 100) montrant la zone goniale infectée.

Remarque ; Les stades sont comptés en jours après l'ecdysis larvo-nymphale. Exemple : N'5 = nymphe de 5 jours préalablement infectée avant l'ecdysis.


ndt
ndf
1


ov
tr
2


G
M
3 a

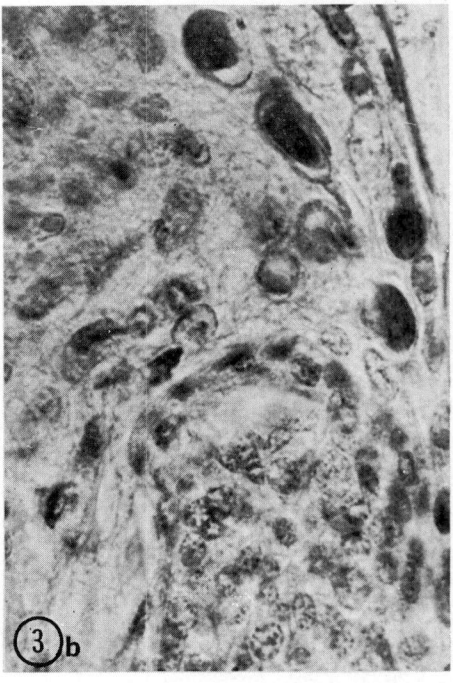

3 b

PLANCHE II

Lésions dans les tissus somatiques de la gonade mâle

FIG. 4

Nymphe (N'7) 12 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe transversale de la gonade mâle (× 420). L'organisation des cystes et les diverses étapes de la spermatogenèse sont normales (*sp* : spermatozoïdes). Les cellules de l'enveloppe conjonctive ont des noyaux denses (*nd*).

FIG. 5

Nymphe (N'5) 10 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe longitudinale d'une gonade mâle (× 1 100). Noyaux denses dans l'enveloppe conjonctive.

FIG. 6

Nymphe (N'8) 12 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe transversale de la gonade d'un animal très infecté (× 1 100). Au centre, cyste en anaphase et télophase de première division de maturation (AT). En haut à gauche, dégénérescence d'un cyste (normale). La spermatogenèse n'est pas affectée par la maladie, malgré l'atteinte au niveau de l'enveloppe conjonctive.

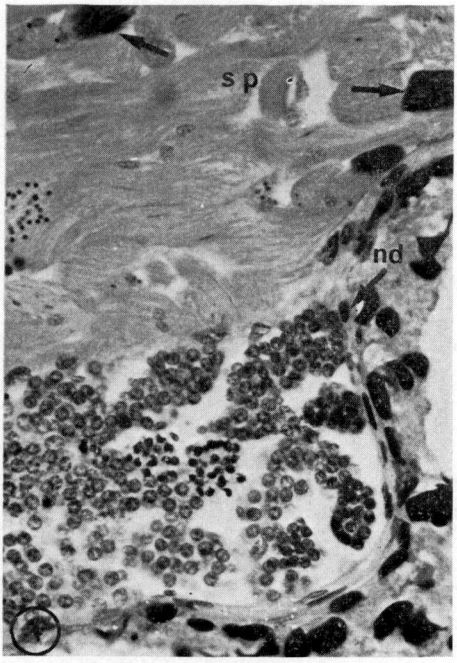
FIG. 7

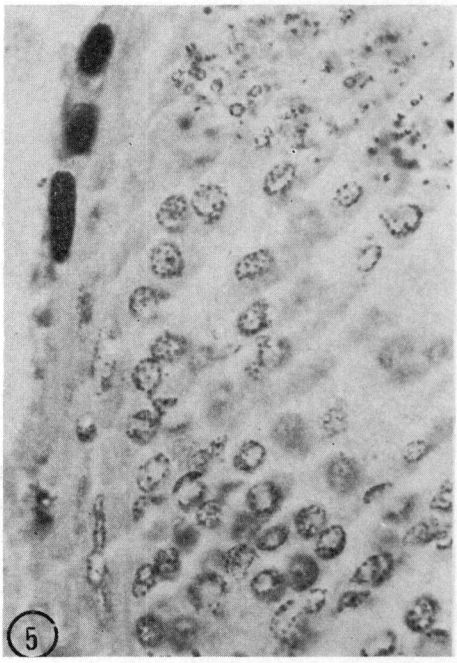
Nymphe (N'5) 10 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe longitudinale d'un canal déférent. De part et d'autre de la lumière, les noyaux des cellules de la paroi présentent les différentes étapes de la densification nucléaire.

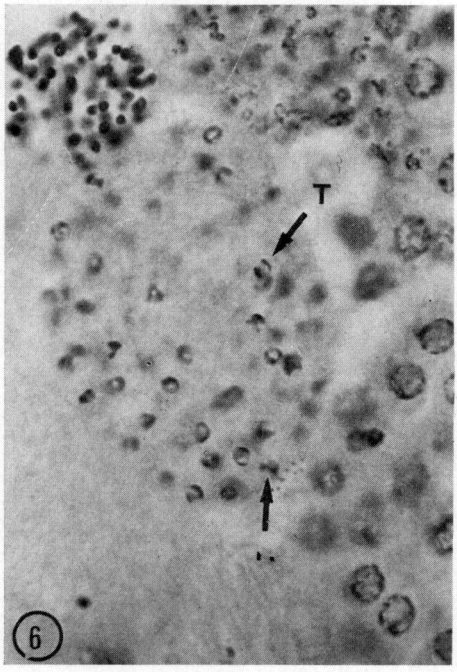
1° Hypertrophie nucléaire et épaisse margination de la membrane nucléaire.

2° Concentration des éléments Feulgen positifs (amas de virions).

3° Hypertrophie maximum du noyau entièrement rempli de matériel viral.


sp
nd
6


5


T
6

1
2
3
7

PLANCHE III

Inaltérabilité de la spermatogenèse

FIG. 8

Nymphe (N'5) 10 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe longitudinale passant par la zone des spermatocytes de premier ordre au début de la prophase (× 1 100). En haut à gauche, dégénérescence (*d*), à ne pas confondre avec la maladie.

FIG. 9

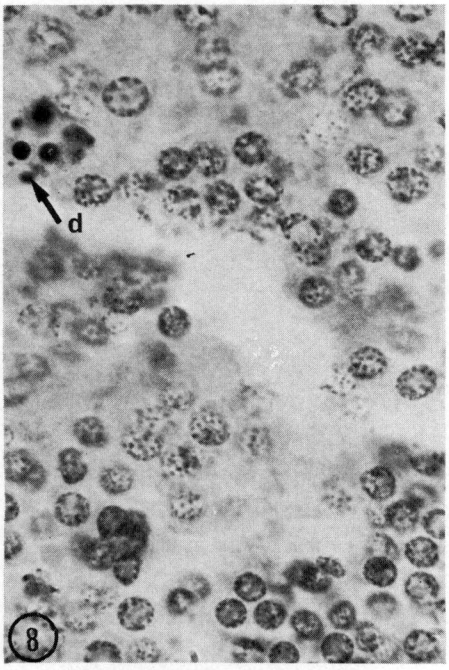
Même individu. Spermiogenèse (× 1 100). Spermatides (*spd*) et spermatozoïdes (*spz*). Aucune altération.

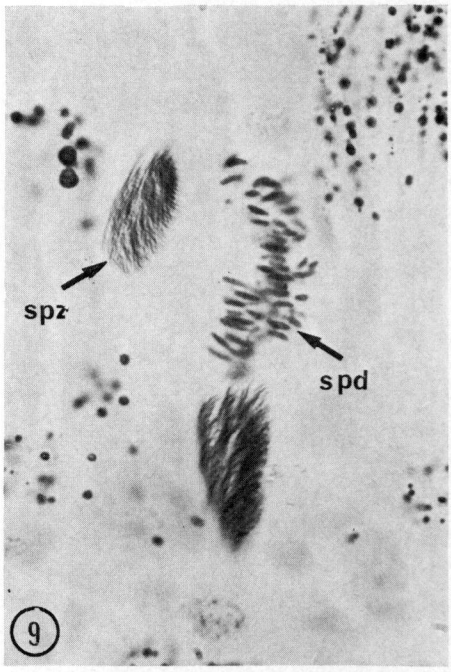
FIG. 10

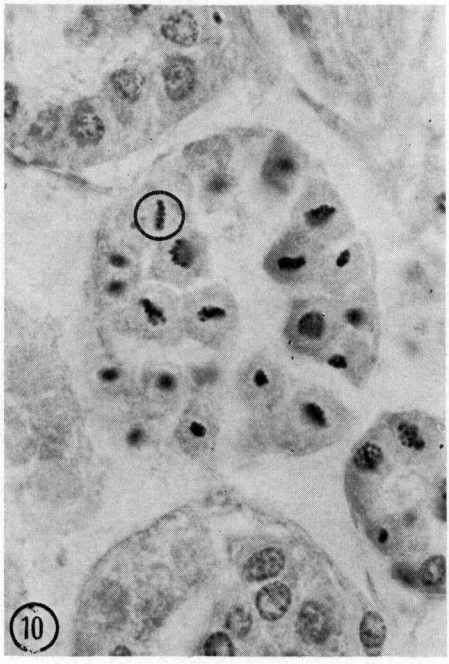
Nymphe (N'2) 6 jours après l'infection (100 DLi_{50}). Coupe transversale d'un cyste où les spermatocytes sont en métaphase (× 1 100). Une plaque équatoriale et le fuseau achromatique sont indiqués.

FIG. 11

Même individu (× 1 100). L'organisation cystaire est particulièrement visible en dessous de la zone des spermatocytes entrés en prophase. Un paquet dégénère (*d*) dégénérescence, un deuxième présente un stade en bouquet (*b*).


d
8


spz
spd
9


10

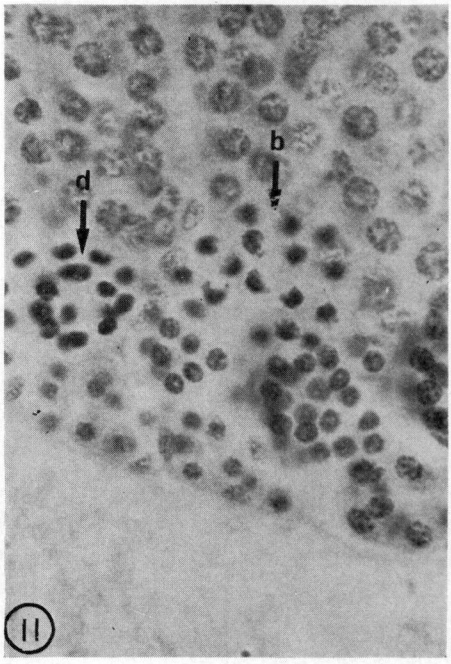

d
b
11

PLANCHE IV

Lésions exceptionnelles de la lignée germinale

FIG. 12 *a*

Nymphe (N'6) 12 jours après inoculation (100 DLi_{50}). Coupe d'une gonade mâle chez *Galleria* très atteinte (× 260). Des noyaux denses sont observables dans la gaine conjonctive et dans les cellules goniales. Le développement cystaire et la spermiogenèse se poursuivent (*cy* : cystes ; *sp* : spermatozoïdes).

FIG. 12 *b*

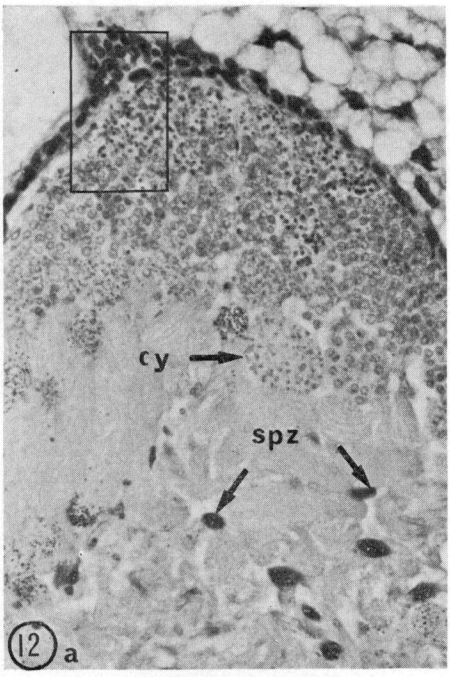
Détail de la figure 12 *a* (× 1 100). Contre l'enveloppe conjonctive noyaux denses très atteints en étape 4, quelques spermatogonies sont lésées, cependant que la zone germinative semble désorganisée (nombreuses dégénérescences).

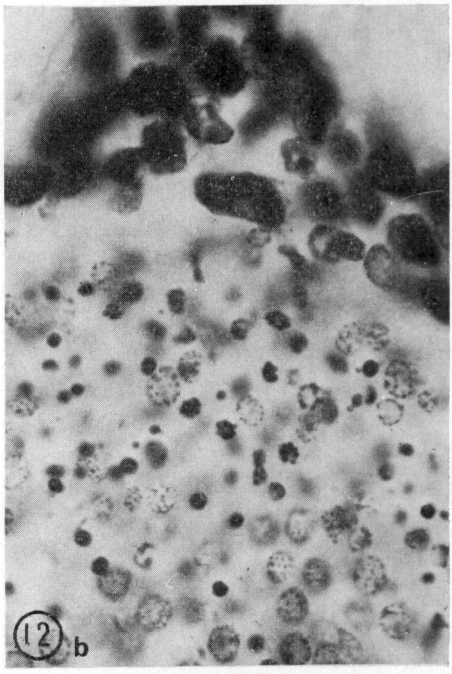
FIG. 13 *a*

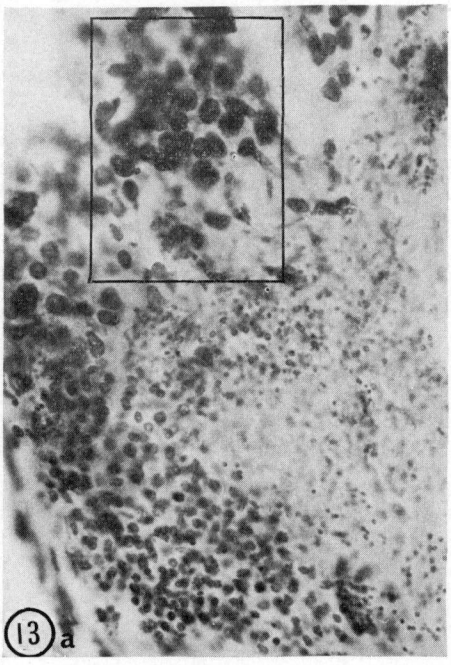
Nymphe (N'8) très infectée 13 jours après l'inoculation (100 DLi_{50}). Infection généralisée de la zone germinative (× 420). La zone des spermatogonies présente de nombreux noyaux denses.

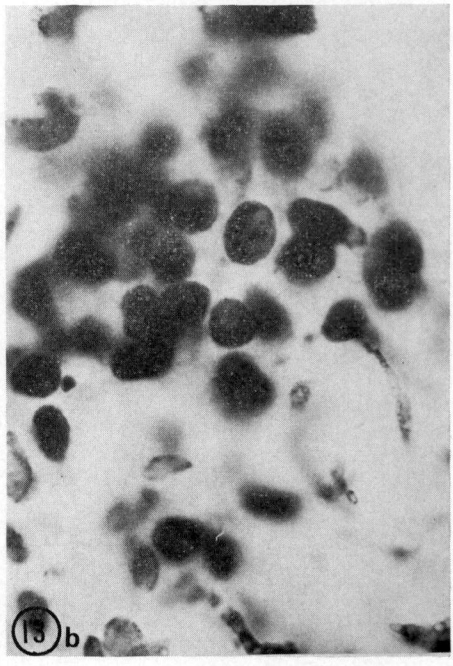
FIG. 13 *b*

Détail de la figure 13 *a* (× 1 100). Spermatogonies infectées.


cy
spz
12 a


12 b


13 a


13 b

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 99-110.

ÉTUDE HISTO - ET CYTOPATHOLOGIQUE D'UNE POLYÉDROSE NUCLÉAIRE DE L'ÉCAILLE FILEUSE (*HYPHANTRIA CUNEA* DRURY) *LEPIDOPTERA, ARCTIIDAE*

M. INJAC*, J.-L. DUTHOIT et A. AMARGIER

Station de Recherches de Cytopathologie,
I. N. R. A., C. N. R. S., 30380 Saint Christol les Alès

* *Laboratoire de Lutte biologique,*
Zemun (Yougoslavie)

RÉSUMÉ

Une virose à polyèdres nucléaires due à une souche de virus japonaise et observée dans la population européenne du Lépidoptère *Hyphantria cunea* est étudiée en microscopie photonique et électronique.

Le développement du virus a été suivi dans les cellules péritrachéales, les cellules de l'hypoderme et du tissu adipeux, et les hémocytes. La maladie est caractérisée par la prolifération anormale des cellules hypodermiques, dans le cytoplasme desquelles apparaissent des zones claires transparentes aux électrons.

Dans un même noyau, les corps d'inclusion polyédriques peuvent être de deux tailles. Certains virions ne sont pas inclus dans les polyèdres et sont libérés hors de la cellule.

Avant l'introduction fortuite de l'Écaille fileuse en Europe et en Asie, CHAPMAN et GLASER (1915) ont signalé l'existence en Amérique du Nord d'une population d'*Hyphantria* en équilibre sous l'effet d'une infection présentant les symptômes de « wilt disease ».

La progression et l'importance des dégâts causés par l'Écaille fileuse en Europe centrale et en Asie ont posé le problème des facteurs naturels de régulation de ces nouvelles populations.

Les premières observations de maladies du type polyédrose ont été faites en Europe par VAGO et VASILJEVIC (1953 — 1958) ; MACHAY, LOVAS (1955), MACHAY (1956), SZIRMAY (1957), WEISER (1958). Ce type de maladie a aussi été constaté en Asie et en Amérique du Nord par KOYAMA (1951) ; HUKUHARA et HASHIMOTO (1966) ; WATANABE (1967) ; STEINHAUS et MARSH (1967). Dans tous les cas observés la maladie

était à l'état endémique. Toutefois, en Europe centrale, depuis la manifestation épizootique d'une granulose (SCHMIDT et PHILIPS, 1958 ; VASILJEVIC, 1962) on n'a plus signalé de cas de polyédrose et même les recherches écopathologiques poursuivies pendant plusieurs années n'ont pas permis de déceler de foyer de cette virose.

Aussi, dans le cas d'une éventuelle lutte virologique contre *H. cunea*, on devra introduire une souche de polyédrose existant à l'état endémique en Amérique ou au Japon. Cette dernière souche s'est montrée très pathogène pour les populations européennes de l'Écaille fileuse. Dans une telle perspective, la connaissance du mode d'action de la souche japonaise vis-à-vis des *Hyphantria* européens est apparue nécessaire. C'est dans ce but que la présente étude d'histopathologie et de microscopie électronique a été réalisée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé des larves à différents stades prélevées dans la nature et élevées au laboratoire sur feuilles de mûrier. Les chenilles ont été infectées par voie buccale avec des suspensions de 10^8 polyèdres/ml.

Des larves ont été fixées dans le liquide de Bouin pendant des durées variables. Après déshydratation dans l'alcool, elles ont été incluses dans la paraffine. Les coupes, de 5 à 6 μ d'épaisseur ont été colorées par la méthode de VAGO et AMARGIER (1963) ou par celle de HAMM (1966).

Des fragments de tissu adipeux, d'hypoderme et d'intestin ont été fixés au glutaraldéhyde à 1 p. 100 pendant 1 heure, postfixés à l'acide osmique à 1 p. 100 pendant 1 heure et inclus dans l'épon ou dans le métacrylate. Des coupes de 0,3 μ d'épaisseur, colorées par le bleu de toluidine, ont été examinées au microscope photonique. Les coupes fines ont été examinées au microscope électronique HITACHI-HU-11-CS.

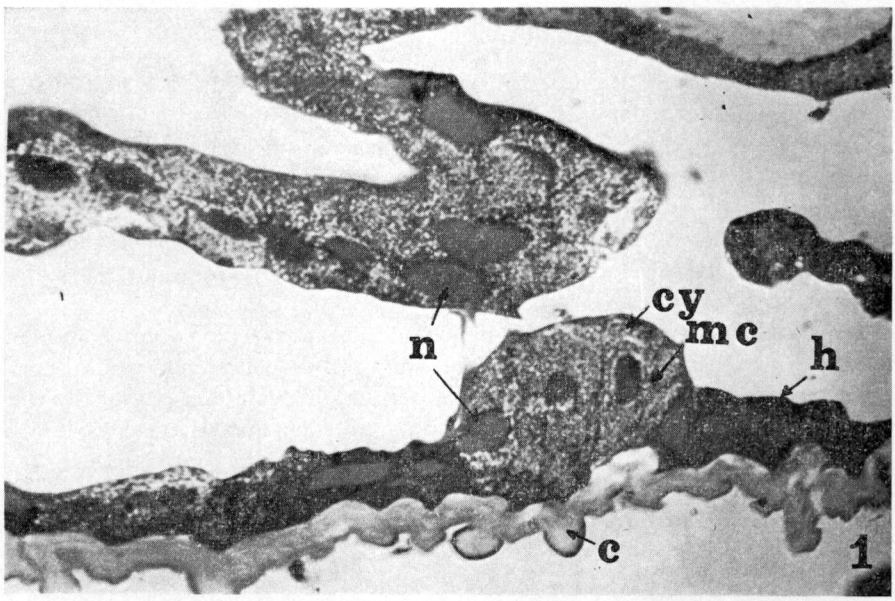
SYMPTÔMES

Les larves infectées par le virus de la polyédrose présentent peu de différences avec les insectes sains. Cependant, elles se nourrissent moins et leurs téguments deviennent plus clairs. En fin de maladie, une légère pression peut faire éclater la peau. Chez les chenilles saines l'hémolymphe de couleur vert-jaune est limpide, tandis que celle des larves infectées devient trouble et de teinte jaune.

Les larves meurent rapidement, accrochées par leurs pattes antérieures aux feuilles ou aux branches des arbres. Au laboratoire à 25° après infection par une suspension de 10^8 polyèdres par ml, les larves au stade L_2 meurent au bout de 9 à 11 jours. Infectées tardivement, elles peuvent effectuer la mue nymphale ; la mort atteint alors la nymphe.

HISTOPATHOLOGIE

Les premières lésions apparaissent dans les cellules de l'hypoderme. Les cellules infectées s'hypertrophient (fig. 1), ainsi que l'ont montré TANADA *et al.* 1969 et plus particulièrement les noyaux. Ensuite une prolifération cellulaire se déclenche brus-



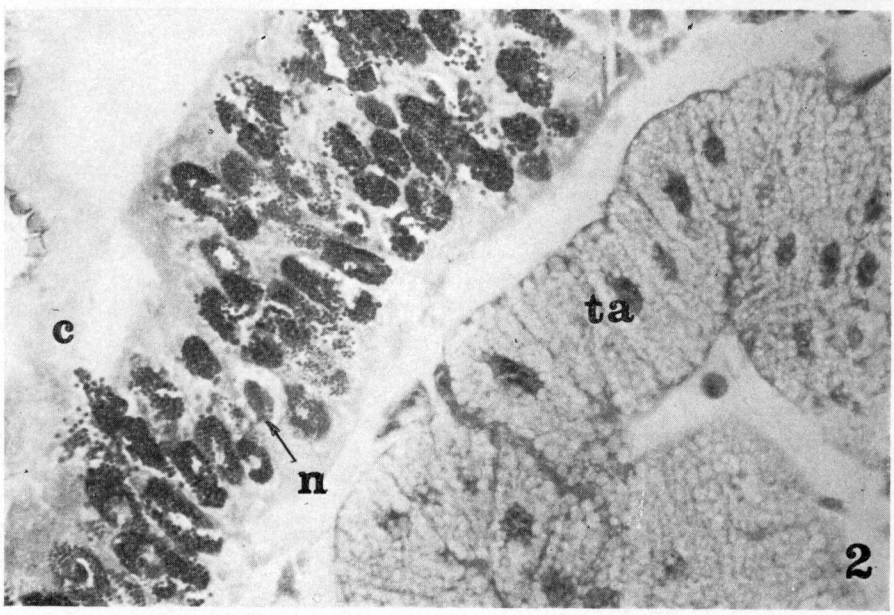


FIG. 1. — *Polyédrose nucléaire d'*Hyphantria cunea *en début d'infection*
Hypoderme. Coupe semi-fine, inclusion Épon. G = 1 100 X

FIG. 2. — *Prolifération des cellules hypodermiques*
Formation de plusieurs couches de cellules et apparition des polyèdres
G = 420 X Coloration HAMM

quement (WATANABE, 1968). Il en résulte généralement la formation de 3 à 5 couches de cellules hypodermiques, quelquefois beaucoup plus. Après la séparation des noyaux, les polyèdres apparaissent en grand nombre à l'intérieur de chacun d'eux.

La formation des polyèdres est une étape rapide : à côté du tissu adipeux apparemment normal, des cellules hypodermiques sont déjà divisées et leurs noyaux sont remplis de polyèdres (fig. 2). Ceci semble aussi prouver que le tissu adipeux est moins sensible que l'hypoderme. La proportion de cellules atteintes suivant les zones de tissu adipeux varie entre 0 et 100 p. 100.

Dans toutes les cellules atteintes : hypodermiques, adipeuses, péritrachéales la prolifération cellulaire se produit, mais elle n'est caractéristique que dans l'hypoderme.

Sur coupes semi-fines de cellules hypodermiques nous avons observé au premier stade de la maladie des altérations cytoplasmiques : de petites ponctuations claires rares au début de l'infection deviennent de plus en plus nombreuses. Sur des coupes de cellules adipeuses de même épaisseur que les précédentes nous avons vu le stroma virogène au centre des noyaux infectés, et les polyèdres à la périphérie.

Nous avons remarqué quelquefois dans le même noyau des polyèdres de deux tailles, les plus gros étant peu nombreux (fig. 3).

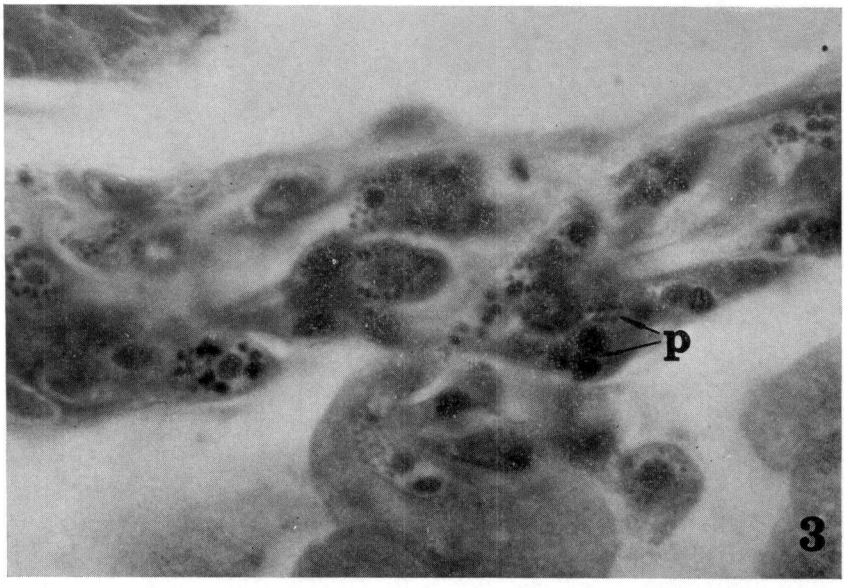


FIG. 3. — *Tissu péritrachéal montrant des polyèdres nucléaires de deux tailles différentes*
Coloration HAMM G = 1 100

Ce fait, déjà noté chez d'autres Lépidoptères pourrait être le résultat de la surinfection de la cellule par le même virus. Les plus gros polyèdres seraient alors issus de la première infection, les plus petits de la seconde (GERSHENSON, 1958). Toutefois il est possible que les polyèdres de grande taille soient la conséquence d'anomalies de cristallisation.

MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

La microscopie électronique confirme le fait que l'hypoderme est infecté avant le tissu adipeux. De petites trachéoles incorporées parmi les membranes cellulaires et la membrane basale de l'hypoderme sont entourées par de nombreux virions. Les cellules situées au voisinage de ces trachéoles, sont, dans la majorité des cas, à un stade avancé de la virogénèse. Ces cellules peuvent être des foyers d'infection pour les autres tissus sensibles.

Dès le début de l'infection nous observons dans le cytoplasme des zones transparentes aux électrons, correspondant aux points clairs notés en microscopie photonique. Elles n'ont pas de membrane et sont plus nombreuses au voisinage de la cuticule (fig. 4). Il semble que ces zones soient des fissures consécutives à l'hypertrophie anormale. Elles peuvent s'élargir et se rejoindre pour former des plages claires de forme allongée. Leur rôle dans la dégénérescence des cellules hypodermiques sera précisé dans un prochain travail.

Les noyaux hypertrophiés se fragmentent (fig. 4) selon un processus amitotique (INJAC *et al.* 1971). Après la phase de prolifération, les cellules hypodermiques ont une forme allongée dans la direction de la cavité générale. Elles sont plus petites que les cellules normales. Dès l'apparition des particules virales, les cellules hypodermiques perdent le pouvoir de se diviser et dégénèrent.

Le stroma virogène occupe une grande partie du noyau. Il est composé de fibres épaisses et peu compactes. A la périphérie apparaissent les virus en formation.

Il est difficile de distinguer l'enveloppe interne des virus. Il semble qu'elle se forme à partir du stroma virogène en même temps que le virus. Dans certains cas les deux phénomènes ne sont pas simultanés ; il est alors possible de distinguer le virion et son enveloppe interne, qui présentent un certain décalage (fig. 5). Après leur formation, les virions, munis de leur enveloppe interne, s'éloignent vers la membrane nucléaire. Ils se disposent alors en groupes réguliers qui s'entourent d'une enveloppe à deux couches, formant ainsi des faisceaux de particules virales (fig. 6).

Dans le tissu hypodermique nous avons compté le nombre de particules virales que contiennent les faisceaux coupés transversalement : ce nombre est compris entre 2 et 17 (HUKUHARA, 1967) avec un ordre de fréquence de 5, 7, 4 et 3. Dans le tissu adipeux l'ordre des fréquences est à peu près le même, mais il y a parfois une seule particule enveloppée.

Dans le noyau il y a fréquemment des masses possédant une structure fibrillaire. Les fibrilles sont généralement disposées de façon linéaire plus ou moins tourmentée. Elles sont limitées souvent par des fragments de membranes disposés perpendiculairement à leur direction (fig. 7). Dans certains cas, ces masses sont circulaires ; les fibrilles ont une allure de pelote et sont disposées de façon concentrique (fig. 8) (KRIEG et HUGER, 1969). Il est possible que ces fibrilles soient associées à la synthèse de la protéine des polyèdres. Certaines pelotes présentent une partie centrale qui ne contient pas de fibrilles (fig. 8). Par contre dans cette cavité se trouvent des filaments que l'on rencontre aussi à l'extérieur de la masse des fibrilles. Ces filaments paraissent creux ; ils ont un diamètre égal à celui des virus et des longueurs très variables. Dans le cytoplasme des cellules infectées nous observons aussi des masses de

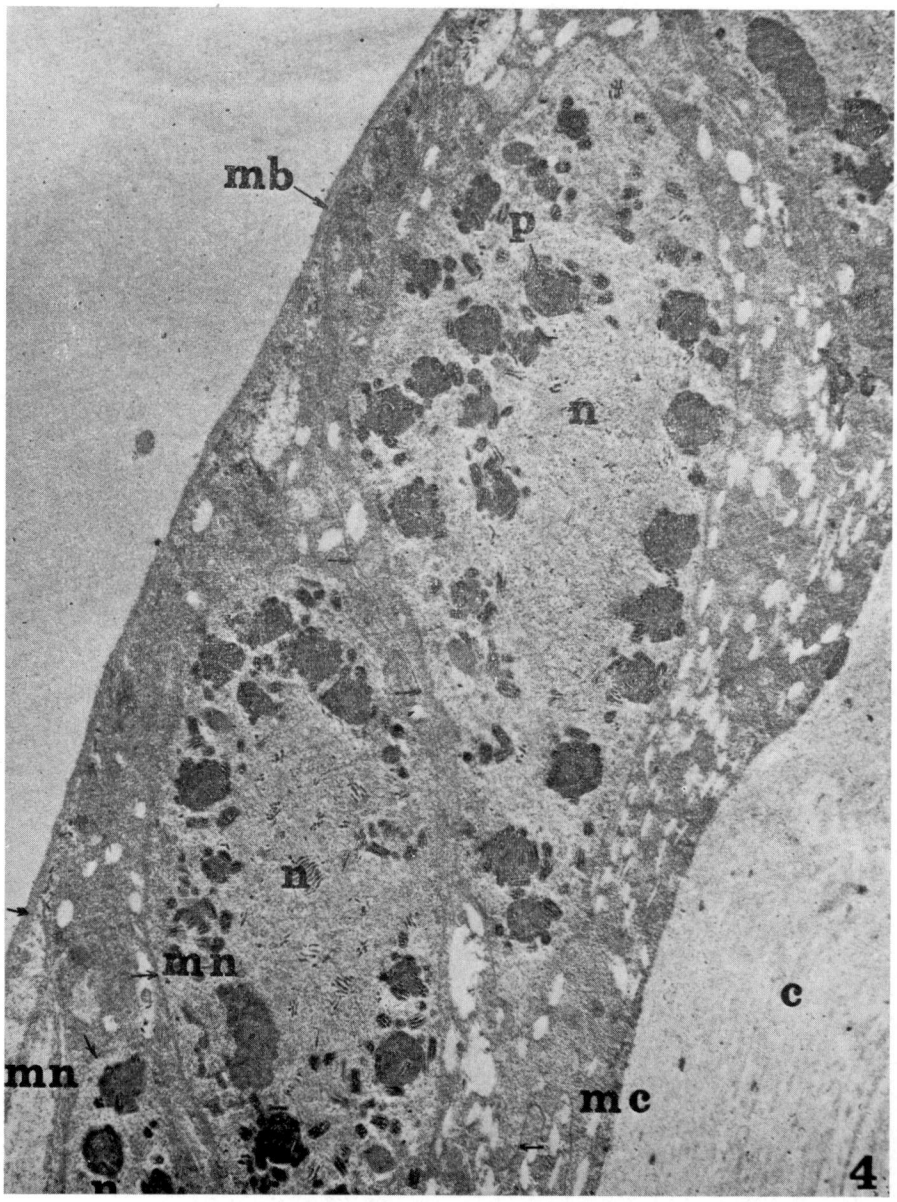


FIG. 4. — *Polyédrose nucléaire chez la chenille d'*H. cunea
Couche hypodermique atteinte de polyédrose nucléaire
Micr. electr. G = 6 900 X

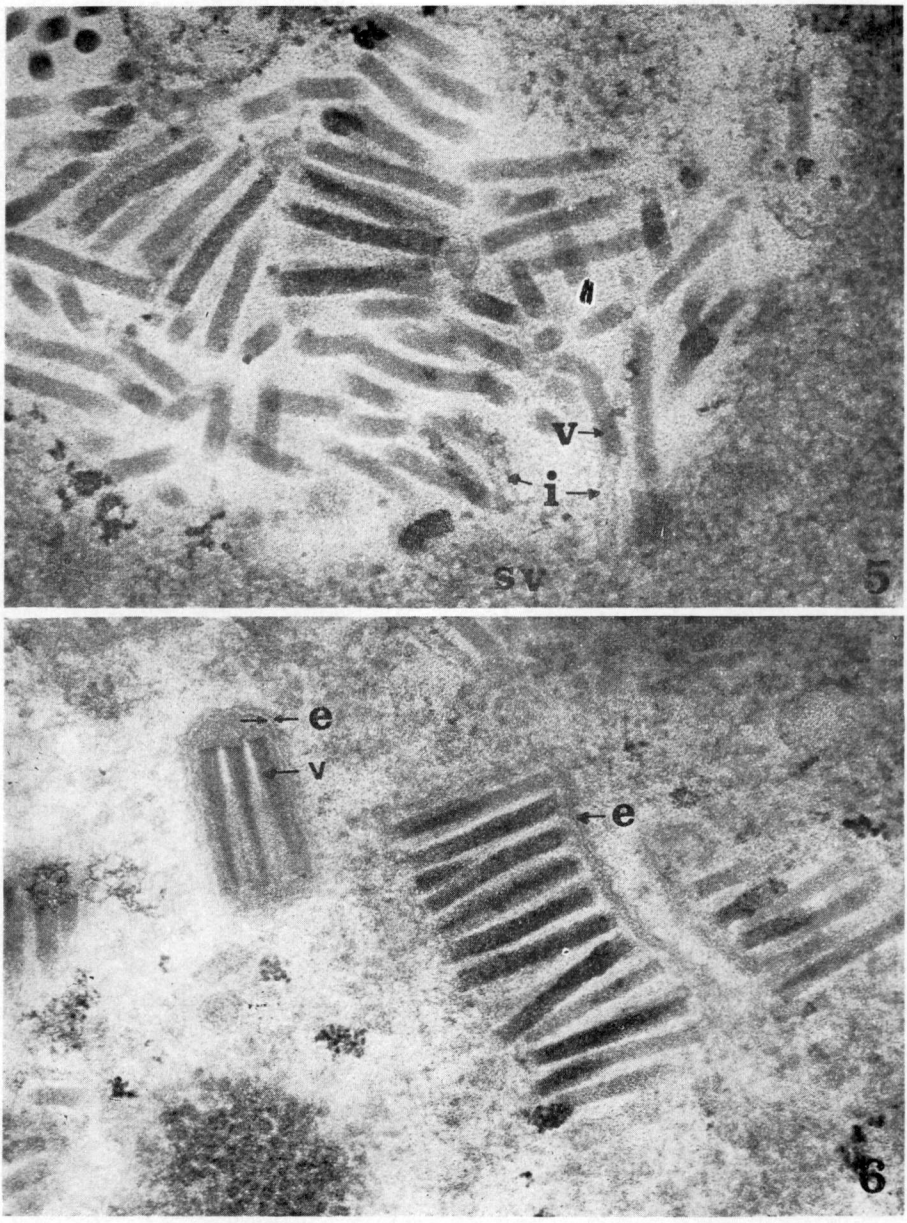


FIG. 5. — *Plage virogène dans un noyau de cellule adipeuse*
Nombreux virions et enveloppes internes de virions
Micr. electr. G = 57 000 X

FIG. 6. — *Noyau avec formation de faisceaux de virus dans une cellule adipeuse*
Micr. electr. G = 57 000 X

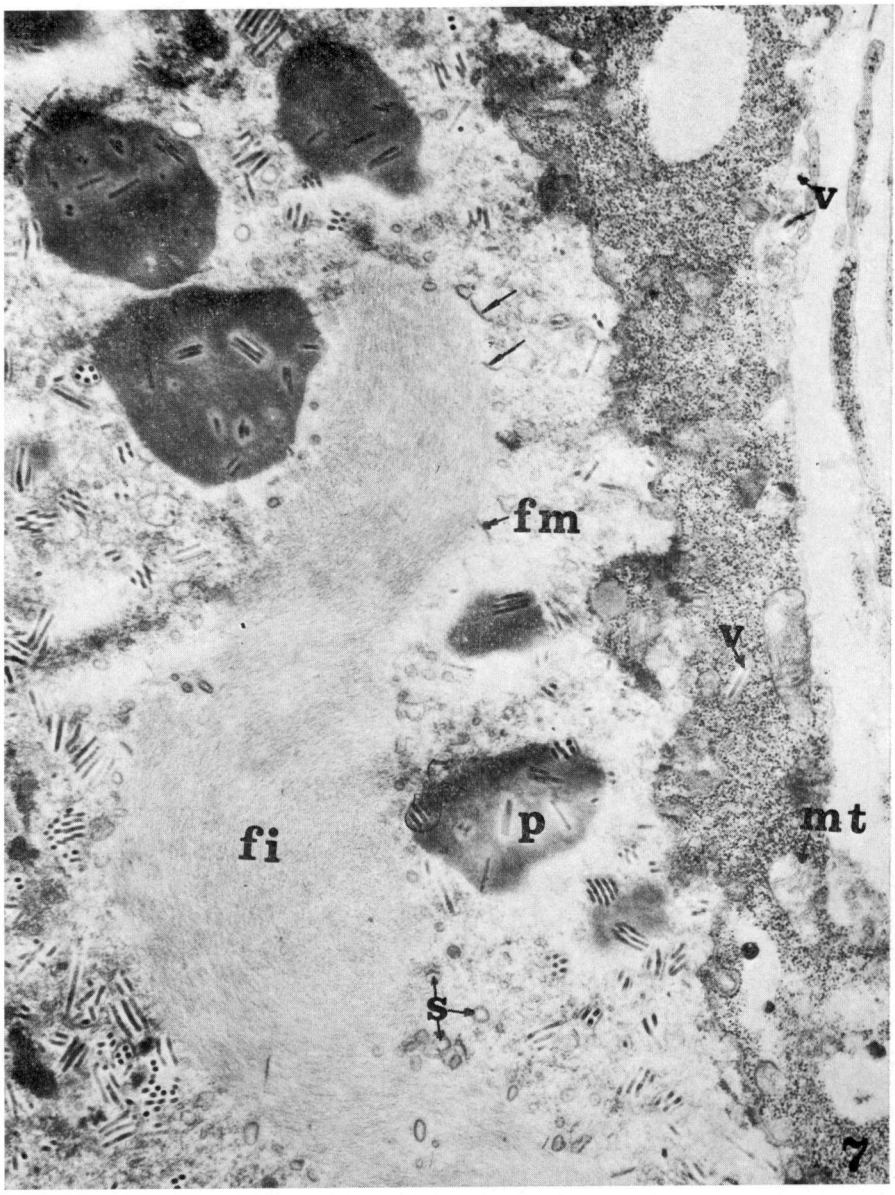


FIG. 7. — *Cellule adipeuse atteinte par la polyédrose nucléaire*
Micr. electr. G = 15 500

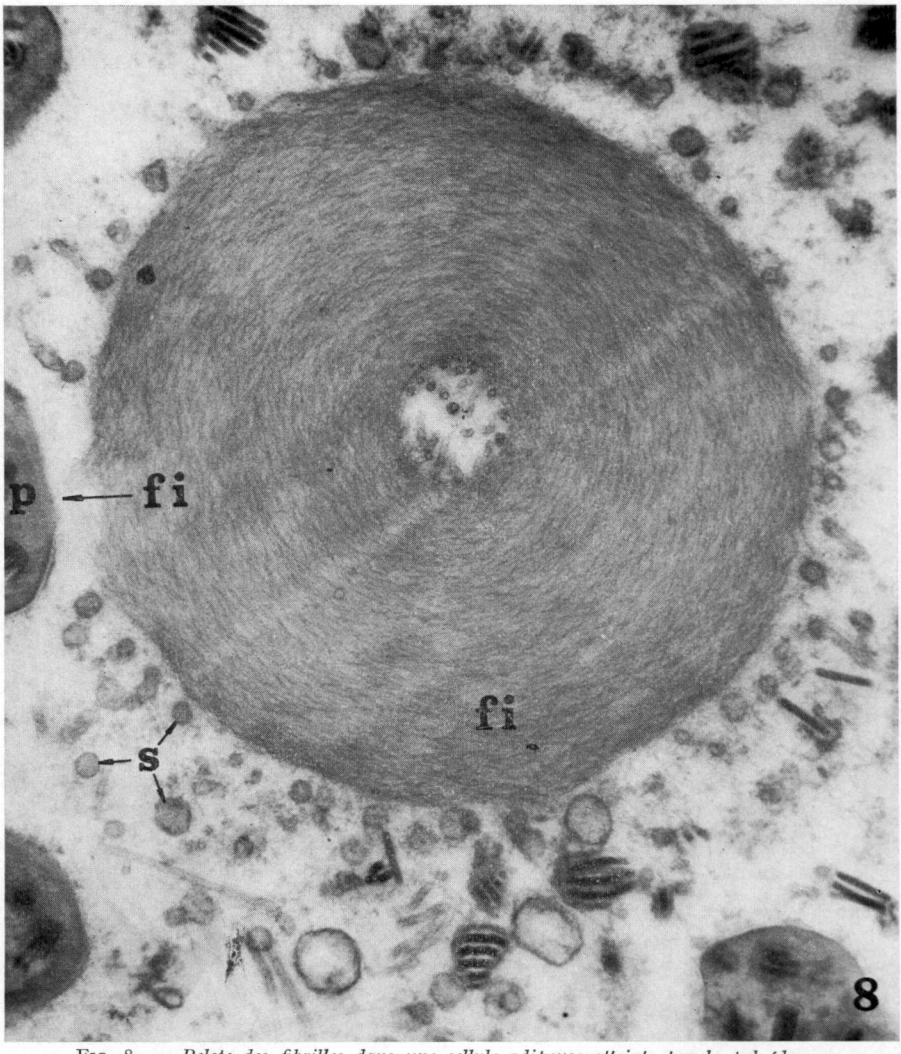


FIG. 8. — *Pelote des fibrilles dans une cellule adipeuse atteinte par la polyédrose*
Micr. électr. G = 31 000 X

c = cuticule
h = hypoderme
ta = tissu adipeux
mb = membrane basale de l'hypoderme
cy = cytoplasme
mc = membrane cytoplasmique
pt = plage transparente
fm = fragment de membrane
p = polyèdre
fi = fibrille
mt = mitochondrie
n = noyau
mn = membrane nucléaire
v = virion
e = enveloppe virale
s = particules sphériques
sv = stroma virogène
i = membrane interne des virions

fibrilles, parfois limitées par des fragments de membranes. En microscopie électronique, il n'est pas possible de déceler de différence entre ces fibrilles cytoplasmiques et celles qui se trouvent dans le noyau.

A proximité de ces masses de fibrilles, se trouve un grand nombre d'éléments vésiculaires polymorphes qui ont une double membrane. Certains virus, isolés ou groupés en faisceaux, sont enveloppés dans ces éléments polymorphes.

Après leur formation, dans les stroma, les faisceaux de virus sont inclus dans le réseau protéinique cristallin. Le processus d'inclusion débute à partir d'une masse dense aux électrons qui grossit en englobant les faisceaux de virus. Les polyèdres sont de forme tétraédrique ; leur taille varie de 1 à 2 microns. Leur structure superficielle a été étudiée au microscope électronique à balayage (VAGO *et al.* 1970). Cependant tous les virus ne sont pas soumis à un tel mécanisme. Certains d'entre eux ne sont pas enveloppés et se trouvent en contact avec la membrane nucléaire interne. Ils sont ensuite activement expulsés de la cellule (INJAC *et al.* 1971).

CONCLUSION

Le virus de la polyédrose nucléaire de *H. cunea* se développe d'abord dans les cellules péritrachéales. Celles-ci constituent des foyers d'infection pour les tissus sensibles. L'hypoderme est ensuite infecté, puis le tissu adipeux et les hémocytes.

L'infection de l'hypoderme présente des symptômes caractéristiques : l'hypertrophie des cellules et l'apparition de zones transparentes aux électrons, constituées par des fissures dans le cytoplasme, annoncent la transformation de ces cellules. Ces premières altérations sont suivies d'une intense prolifération selon un processus amitotique. La multiplication des virus se produit après la phase de prolifération.

Dans les noyaux des cellules infectées, les virus et leur enveloppe intime sont synthétisés simultanément à partir du stroma virogène. Les faisceaux de virus sont entourés par une enveloppe à deux couches et inclus dans les polyèdres. Des masses de fibrilles présentes dans le noyau de ces cellules semblent liées à la virogenèse.

Les manifestations de la maladie dans les différents tissus sensibles ne sont pas uniformes. En ce qui concerne la sensibilité au virus, c'est dans la couche de cellules hypodermiques que les phénomènes caractéristiques se reproduisent avec le plus de netteté pendant l'évolution de la maladie.

Reçu pour publication en juillet 1972.

SUMMARY

HISTOLOGICAL AND CYTOLOGICAL STUDY OF A NUCLEAR POLYHEDROSIS OF THE FALL WEBWORM (*HYPHANTRIA CUNEA* DRURY), *LEPIDOPTERA ARCTIIDAE*

A virus disease due to a japanese virus strain and observed in the European population of *Hyphantria cunea* is studied by light and electron microscopy. The virus develops in the tracheal matrix, hypodermic and fat body cells, and hemocytes. The main characteristic of this

disease is an abnormal hypodermic cell proliferation. In the cytoplasm of these cells appear light electron transparent areas.

Inside a single nucleus the polyhedral inclusion bodies may be of two sizes. Several viruses are not included into the polyhedra and are released out of the cell.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPMAN J. W., GLASER R. W., 1915. A preliminary list of insects which have wilt, with a comparative study of their polyhedra. *J. Econ. Entomol.*, **8**, 140-150.

GERSHENZON S. M., 1958. The variability of polyhedra viruses. (In Russian, English Summary). *Transactions of the first International Conference of Insect Pathology and Biological Control Praha*, 1958.

HAMM J. J., 1966. A modified azan staining technique for inclusion body viruses. *J. Invert. Path.*, **8**, 125-126.

HUKUHARA T., HASHIMOTO Y., 1966. Virus diseases of *Hyphantria cunea* DRURY. *Jap. J. Appl. Ent. Zool.*, **10**, 149-155.

HUKUHARA T., 1967. Genetic variation of polyhedrosis viruses of insects. Japan Seminar on Microbial Control of Insect Pests, Fukuoka.

KOYAMA R., 1951. *On the pathogenesis of the fall Webworm Sekoia*, 1/2, 4-5.

INJAC M., VAGO C., VEYRUNES J. C., AMARGIER A., DUTHOIT J. L., 1971. Étude cytopathologique de la prolifération anormale des cellules hypodermiques chez le Lépidoptère *Hyphantria cunea* DRURY (sous presse).

INJAC M., VAGO C., VEYRUNES J. C., DUTHOIT J. L., 1971. Mécanisme de libération de virions des cellules de *Hyphantria cunea* infectées par une polyhédrose (sous presse).

KRIEG A., HUGER A. M., 1969. New ultracytological finding in insect nuclear polyhedrosis. *J. Invert Path.*, **13**, 270-280.

MACHAY M. J., LOVAS B., 1955. Der Erreger der Viruskrankheit von *Hyphantria cunea* DRURY. *Acta Microbiol.*, **3**.

MACHAY M. L., 1956. Az amerikai fehér szövölepke irtàsa virussal. *Agràrtud*, **8**, 349-350.

SZIRMAY J., 1957. Biologische Abwehr mittels Virus zur Bekämpfung der *Hyphantria cunea* D RURY. *Acta Microbiol. Hungar.*, **4**, 31-42.

SCHMIDT L., PHILIPS G. J., 1958. Granuloza-nova virusna bolest na dudovcu *Hyphantria cunea* D. Poljoprivredno-Sumarski Fakultet, Zagreb.

STEINHAUS E. A., MARSH G., 1967. Previously unreported accessions for diagnosis and new records. *J. Invert. Path.*, **9**, 436-438.

TANADA Y., HUKUHARA T., CHANG G. Y., 1969. A strain of nuclear polyhedrosis virus causing extensive cellular hypertrophy. *J. Invert. Path.*, **13**, 394-405.

VAGO C., VASILJEVIC' L. J., 1953. Détection d'une maladie à virus parmi les populations européennes de l'écaille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY) actuellement en progression. *C. R. Acad. Agr.*, **10**, 654-655.

VAGO C., VASILJEVIC' L. J., 1958. Polyédrie cytoplasmique chez l'écaille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY). *Entomophaga*, **3**, 197-198.

VAGO C., AMARGIER A., 1963. Coloration histologique pour la différenciation des corps d'inclusion polyédriques de virus d'insectes. *Ann. Epiphyties*, **XIV**, 269-274.

VAGO C., QUIOT J. M., VINCKIER D., DUTHOIT J. L., MEYNADIER G., INJAC M., 1970. Étude des corps d'inclusions polyédriques d'invertébrés en microscopie électronique à balayage. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **271**, 1053-1055.

VASILJEVIC L. J., 1962. Étude au microscope électronique du virus de la granulose de l'écaille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY). *Coll. Int. Pathol. Insectes*, Paris.

WATANABE H., 1967. Electrophoretic separation of the hemolymph proteins in the fall webworm, *Hyphantria cunea* DRURY infected with a nuclear polyhedrosis virus. *J. Invert. Path.*, **9**, 4, 570-571.

WATANABE H., 1968. Abnormal cell proliferation in the epidermis of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, induced by the infection of a nuclear polyhedrosis virus. *J. Invert., Path.*, **12**, 310-320.

WEISER J., 1958. Report on work of the laboratory of insect pathology 1957 and 1958. Czeshosl. *Acad. Sci. Ins. Biology*, 1-48.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 111-117.

OBSERVATIONS SUR L'ÉTAT DES ORGANES REPRODUCTEURS DE FEMELLES DE *DACUS OLEAE* (*DIPTERA, TRYPETIDAE*) CAPTURÉES EN GOBE-MOUCHES PENDANT UNE ANNÉE

G. N. STAVRAKIS

Institut Phytopathologique Benaki,
Kiphissia, Athènes (Grèce)

RÉSUMÉ

Les captures d'adultes de *D. oleae* tous les cinq jours pendant un an ont permis certaines observations sur la variation de l'état des organes reproducteurs des femelles et de l'importance du nombre d'œufs dans les ovaires. Le travail a été réalisé dans l'oliveraie de Sipias, près de Limni au nord de l'île d'Eubée, considérée comme un foyer de *D. oleae* pendant la période d'été. Des observations similaires, faites dans l'oliveraie de Roviès pendant le printemps, ont permis de constater un certain parallélisme, mais aussi des différences quantitatives notables.

INTRODUCTION

On sait que les préjudices causés par *D. oleae* aux olives ont pour origine l'activité des femelles ou plus précisément les piqûres de ponte, fertiles ou non, et secondairement celles qu'on peut éventuellement appeler « piqûres d'alimentation », le rôle des mâles n'étant qu'indirect. On sait aussi depuis longtemps l'intérêt des données sur la composition qualitative de la population aux diverses époques de l'année et on a souvent pensé prendre en considération l'état physiologique de l'appareil reproducteur des femelles pour fixer la date des interventions contre ce ravageur (MARTIN, 1948).

— SACANTANIS (1957), discutant la méthode de lutte par appâts empoisonnés pense qu'elle néglige le fait fondamental qu'une femelle mûre ne s'intéresse plus à aucune nourriture mais uniquement à pondre. Toutefois l'auteur n'apporte pas de données expérimentales à l'appui de cette idée, et d'autre part un stimulus de ponte

ne peut pas être, au moins *a priori*, exclu dans le cas des appâts. Le même auteur (1957) signale d'ailleurs qu'il a observé, par dissection, que 50 p. 100 des femelles capturées en gobe-mouches au mois d'août avaient déjà déposé leurs œufs.

— ORPHANIDIS (1957), a trouvé que le pourcentage des femelles capturées en gobe-mouches, a suivi, à partir de juin jusqu'en novembre, une fluctuation constante sous forme de courbes successives, présentant quatre maxima se situant début juin, mi-août, mi-septembre et début novembre et quatre minima, fin juin, fin juillet, fin août et le dernier tiers de septembre ; il suppose alors une corrélation entre le pourcentage des femelles et les générations successives de l'insecte.

— BATEMAN, FRIEND et HAMPSHIRE (1966), afin d'estimer l'efficacité d'un attractif pour les mâles de *Dacus tryoni* FROG., comptent les captures, calculent la relation mâles-femelles, le pourcentage de femelles mûres accouplées (présence de spermatozoïdes dans les spermathèques) et le taux d'attaque sur les fruits.

— En ce qui concerne *D. oleae*, c'est AVIDOV (1957) qui a poursuivi systématiquement l'étude de la composition qualitative saisonnière de la population d'adultes et plus particulièrement l'état des organes reproducteurs des femelles.

— Si le présent travail peut être considéré comme une répétition légèrement modifiée de celui d'AVIDOV, nous pensons toutefois qu'il présente un intérêt certain, car il confirme les lignes générales des observations de l'auteur israélien et permet certaines généralisations.

Il met aussi en lumière les différences chronologiques, qualitatives et quantitatives existantes, dues certainement aux différences écologiques entre les deux pays.

TECHNIQUES D'ÉTUDE

Nos observations ont eu pour cadre l'oliveraie de Sipias, près de Limni, dans le nord d'Eubée, localité considérée comme un foyer de *D. oleae* pendant la période chaude de l'année. Cette oliveraie n'a pas reçu de traitements chimiques depuis plusieurs années. Nos observations ont duré un an, du 1er juillet 1970 au 1er juillet 1971.

Parallèlement, pendant le printemps 1971 du 20 mars au 25 mai, nous avons effectué les mêmes observations dans l'oliveraie de Roviès, située à 8 km de la précédente, irriguée, recevant tous les soins culturaux et des traitements insecticides régulièrement tous les ans.

Les captures à Sipias ont été réalisées avec un réseau de 70 gobe-mouches en verre, distribués dans une olivette de 630 arbres.

A Roviès un réseau de 126 gobe-mouches en verre, distribués dans une oliveraie de 13 000 arbres environ fut utilisé. L'attractif était une solution aqueuse d'hydrolysat de protéine à la concentration de 0,5 p. 100. La récolte des insectes et le renouvellement des solutions étaient effectués tous les cinq jours.

En laboratoire étaient effectués les contrôles suivants :

— Comptage des insectes capturés, en séparant les sexes ;

— dissection des femelles (100 par relevé, si on capturait assez, sinon toutes les femelles disponibles) pour l'examen de l'état des organes reproducteurs ;

— comptage des œufs formés présents dans les ovaires des femelles.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus sont représentés graphiquement sur les figures 1, 2, 3, 4 qui font ressortir les changements intervenant dans la composition de la population selon la saison. On peut en tirer les enseignements suivants :

1° La moyenne mensuelle des captures par gobe-mouche à Sipias a varié de 6 au mois de février à 971 au mois d'août ; 30 p. 100 du total annuel des captures se situe au mois d'août et 79 p. 100 pendant le trimestre d'août à octobre (fig. 1).

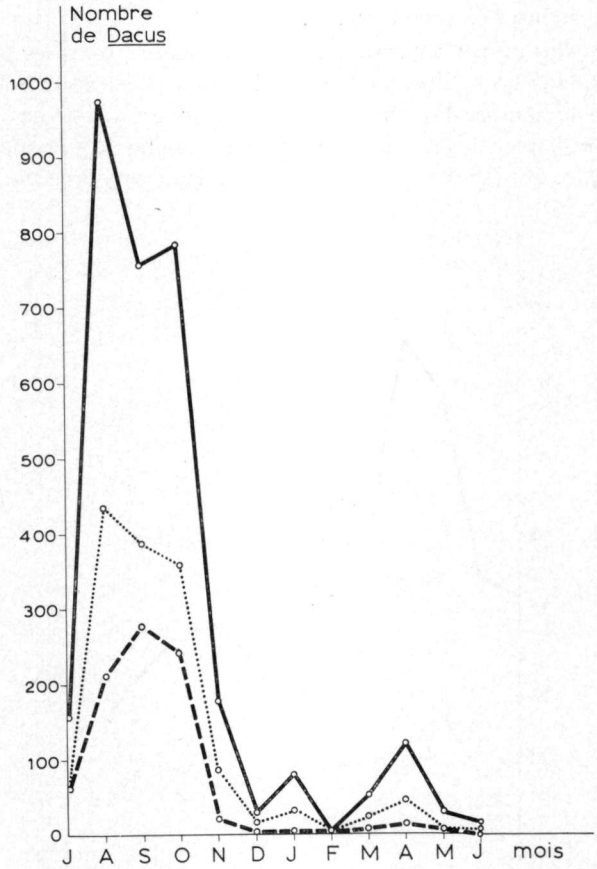


FIG. 1 — *Captures mensuelles par gobe-mouche*
o——o Captures totales (mâles + femelles)
o·····o Femelles totales
o– – –o Femelles mûres

2° Les femelles représentent 46 p. 100 du total des captures et 81 p. 100 du total des femelles est capturé pendant le trimestre août-octobre. La proportion de femelles, par rapport aux captures totales pendant la période juillet-novembre, a varié seulement de 40 à 50 p. 100 avec un maximum de 51,3 p. 100 en septembre. En avril, ce pourcentage n'était que de 37,6 p. 100 (fig. 1).

3° Les femelles dont les ovaires contenaient des œufs mûrs représentaient environ 57 p. 100 du total des femelles et 26 p. 100 des captures totales d'adultes. 87,2 p. 100 de femelles prêtes à pondre sont capturées pendant le trimestre d'août à octobre avec un maximum (33 p. 100) en septembre et non en août, alors que dans ce dernier mois on a observé le maximum de captures d'adultes et de femelles (fig. 1).

4° Le pourcentage de femelles mûres capturées a été maximum (94,5 p. 100) en juillet, puis il est tombé brutalement en août (48,1 p. 100) pour croître à nouveau en septembre (71,3 p. 100) et octobre (67,4 p. 100). Faible en hiver (4,5 à 10,6 p. 100), il varie de 28,5 à 44,4 p. 100 au printemps mais passe par un minimum de 2,5 p. 100 en juin, avant de remonter en juillet (fig. 1).

5° Des femelles mûres sont présentes toute l'année, mais les quantités les plus grandes d'œufs dans les ovaires sont observées en septembre et octobre. C'est ainsi que la moyenne du nombre d'œufs par femelle mature est de 15,6 au mois de septembre et 12,4 en octobre, avec des maxima absolus par femelle de 59 œufs en septembre et 66 en octobre (fig. 2) ; pendant les dix autres mois la moyenne varie de 4,6 (juin) à

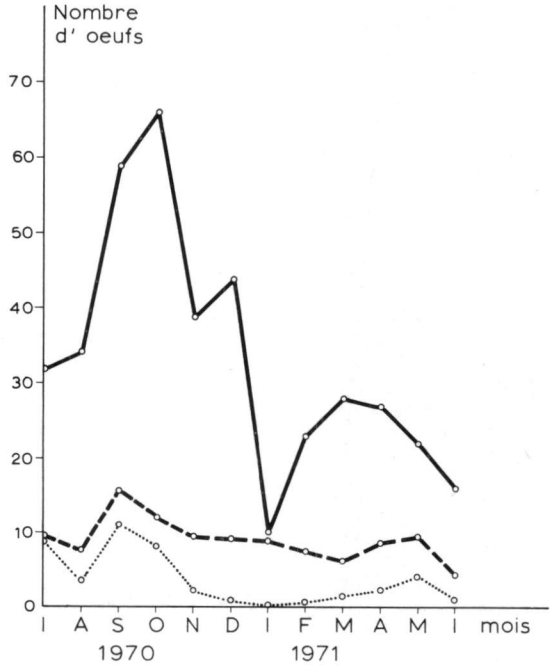


FIG. 2 — *Résultats des dissections de femelles*

o——o Nombre maximum d'œuf par femelle, par rapport au nombre total de femelles disséquées
o·····o Nombre moyen d'œufs par femelle, par rapport au nombre total de femelles disséquées
o– – –o Nombre moyen d'œufs par femelle par rapport aux femelles mûres

9,7 (novembre). Si l'on rapporte le nombre d'œufs à la totalité des femelles, on ne trouve que 0,4 œufs par femelle en janvier et 11,1 en septembre (fig. 2). Une diminution nette du nombre de femelles contenant des œufs et de la quantité d'œufs dans les ovaires se produit en juin puis en août.

6° La comparaison des observations effectuées au printemps dans les deux régions côtières, Sipias et Roviès, distantes de huit kilomètres, mais séparées par des collines couvertes de bois de pins, montre que les variations du nombre de femelles, dont les ovaires contiennent des œufs, (fig. 3), et du nombre d'œufs dans les ovaires (fig. 4) est parallèle, mais qu'il y a toujours une différence en faveur de l'oliveraie de Roviès.

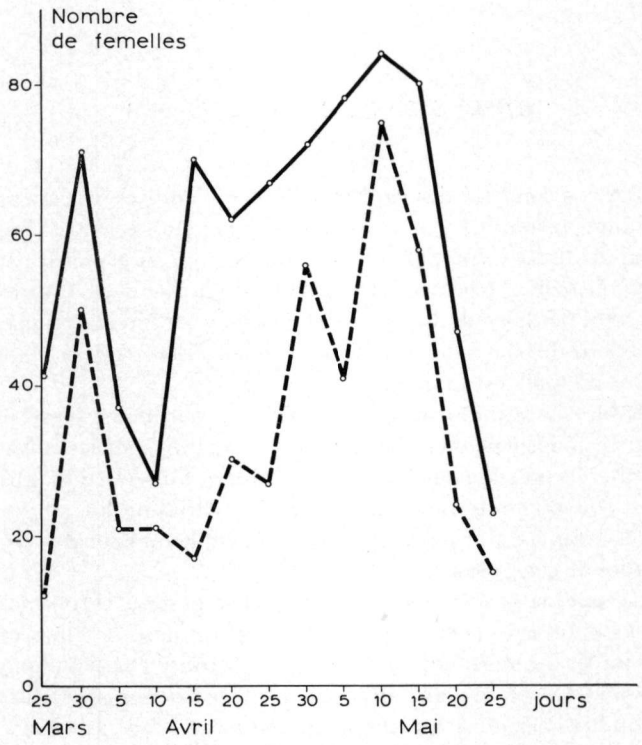


FIG. 3 — *Pourcentages de femelles mûres*

o——o Roviès
o– – –o Sipias

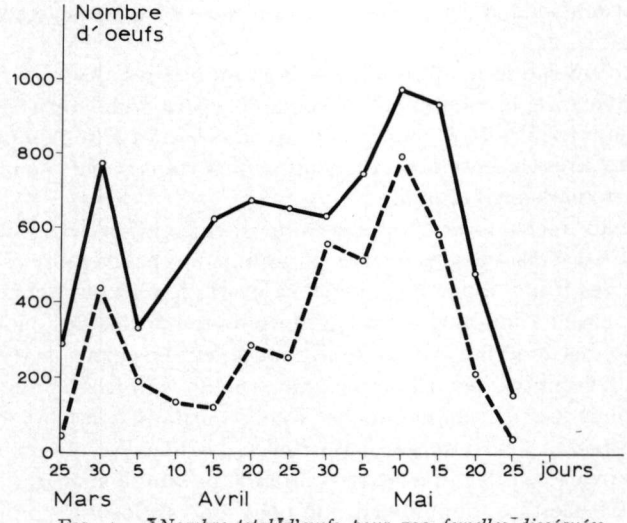


FIG. 4 — *Nombre total d'œufs pour* 100 *femelles disséquées*

o——o Roviès
o– – –o Sipias

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

AVIDOV (1957) a constaté des captures élevées d'adultes en général, de femelles et de femelles mûres pendant les mois d'octobre et novembre, mais aussi des captures importantes durant toute la période de juin à décembre. A Sipias d'Eubée du Nord, nous avons obtenu pendant le trimestre d'août à octobre des captures très élevées, vis-à-vis des autres périodes de l'année. En raison des différences constatées, on peut penser que la période de l'activité préjudiciable de *D. oleae* en Grèce, comparativement à ce qui se passe en Israël, est limitée.

Il est probable que la maturation plus précoce des fruits en Israël et les températures relativement plus élevées en novembre et décembre sont les causes de ces différences. Il est toutefois possible que l'activité nuisible de l'insecte tant que les conditions sont favorables, soit plus intense chez nous. De la variation du pourcentage des femelles capturées à Sipias, il n'est toutefois pas possible de tirer des conclusions concernant le nombre de générations.

En ce qui concerne le pourcentage des femelles mûres, AVIDOV (1957) en Israël trouve qu'il est important en septembre-octobre et en juin. A Sipias un maximum a été observé en juillet ; il était élevé en septembre-octobre et assez important pendant la période mars-mai. Le retard d'un mois de l'activité ovarienne généralisée des femelles, c'est-à-dire en juillet chez nous, au lieu de juin en Israël, doit sans doute être attribué à l'adaptation de l'insecte à une maturation plus précoce des fruits. Le niveau relativement plus élevé à Sipias du pourcentage de femelles mûres peut être en partie attribué au stade de développement du fruit qui n'étant pas encore propice, n'incite pas les femelles à pondre. Il y a, semble-t-il, un manque de concordance temporelle entre l'apparition des œufs dans les ovaires (plus précoce) et celle du stade réceptif du fruit.

En ce qui concerne le nombre d'œufs dans les ovaires, AVIDOV (1957) note le maximum en novembre, un nombre élevé pendant la période de juin à décembre et très peu d'œufs de janvier à mai. A Sipias, nous avons observé le maximum du nombre d'œufs dans les ovaires en septembre, un nombre important d'œufs de juillet à décembre, mais aussi en mars-avril et mai.

En outre nous avons observé un minimum d'œufs en janvier et des baisses très nettes du nombre d'œufs dans les ovaires en juin, août et novembre. Il est probable que la présence des fruits, à partir de juillet, à un stade plus ou moins réceptif pour la ponte, a une action stimulatrice sur l'activité reproductrice des femelles, mais les températures élevées de juillet-août semblent suspendre en partie l'activité ovarienne. La diminution du nombre d'œufs dans les ovaires en novembre est probablement due, d'une part au ralentissement du métabolisme consécutif, dû à la baisse de la température, et d'autre part à l'activité de ponte élevée des femelles observées pendant ce mois. L'activité ovarienne des femelles au printemps ne semble concerner qu'une partie seulement d'entre elles, qui diminue en juin pour des raisons mal connues.

Enfin, il est intéressant de signaler que la différence notée entre la région de Sipias et de Roviès concernant le nombre des femelles dont les ovaires contiennent des œufs

ainsi que le nombre d'œufs, était toujours, mais plus particulièrement en avril, nettement en faveur de l'oliveraie de Roviès, qui est plus étendue, irriguée, et qui reçoit régulièrement tous les soins culturaux — mais aussi des traitements phytosanitaires.

Reçu pour publication en juillet 1972.

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus vifs, au Dr Y. ARAMBOURG, qui a bien voulu lire et discuter le manuscrit.

Nos remerciements s'adressent aussi à Mlle G. KANTZOULA pour l'aide technique apportée lors de la dissection des insectes et le comptage des œufs.

SUMMARY

RESULTS OF DISSECTION OF FEMALES *D. OLEAE*

The catch of adults of *Dacus oleae* (for five days intervals) during a year, has permitted some observations on the state of reproductive organs of females and the importance of the number of eggs in the ovaries. The work was carried out at the Sipias olive-grove near Limni in the North of the Island of Euboea, considered to be a seat of *D. oleae* during the summer. Similar observations carried out at Rovies grove, during the spring, showed that the situation is parallel, but there were also quantitative differences noticeable.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AVIDOV Z., 1957. Phenology of the olive fruit fly (*Dacus oleae* GMEL) in the coastal plain of Israel. *Ktavim*, **8** (1-2), 105-116.

BATEMAN M. A., FRIEND A. H., HAMPSHIRE F., 1966. Population suppression in the Queenland fruit-fly *Dacus* (Strumeta) *tryoni*. I. The effects of male depletion in a semi-isolated population. *Aust. J. Agric. Res.*, **17**, 687-97.

MARTIN H., 1948. Observations biologiques et essais de traitements contre la Mouche de l'olive *Dacu. oleae* ROSSI) dans la province de Tarragone (Espagne) de 1946 à 1948. *Bull. Soc. Entoms Suisse* **21**, 362-402.

ORPHANIDIS P. S., 1957. B'. Relationship between the proportion of females per cent of adults captured in the traps and *Dacus* generations. *Geoponica*, **31-32** : 183.

SACANTANIS K. B., 1957. Les bases scientifiques d'une lutte rationnelle contre *Dacus oleae* GMEL. *Geoponica*, **33** : 219-225 ; **35** : 304-310, **36-37** : 340-346 (en grec).

ANNALES DE ZOOLOGIE--ECOLOGIE ANIMALE

VOL. 5 N°. 1 1973

Nom de l'emprunteur	Emprunté le	remis le

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 119-127.

ESSAI DE DESTRUCTION DU RAT MUSQUÉ *ONDATRA ZIBETHICA* L. EN ÉTANGS PAR EMPOISONNEMENT SUR RADEAUX

J.-P. VINCENT et J.-P. QUÉRÉ

Laboratoire des Petits Vertébrés,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas

RÉSUMÉ

Deux essais de destruction de rats musqués au moyen de radeaux d'empoisonnement ont été réalisés sur des étangs du Loir-et-Cher. Le calcul de l'efficacité pratique a été effectué à l'aide de plusieurs méthodes de contrôles :

a) mesure de la consommation avant et après traitement ;
b) évaluation du niveau initial de la population par application de la méthode de l'Index de Lincoln ;
c) observation de divers indices d'activité ;
d) piégeage final.

L'empoisonnement a été réalisé à l'aide de carottes coupées en rondelles et enrobées d'une solution huileuse à 0,25 p. 100 de chlorophacinone. La dose utilisée était de 20 cm^3/kg d'appâts, soit 0,005 p. 100 de matière active.

Les résultats obtenus par ces divers moyens de contrôles sont concordants et permettent d'estimer l'efficacité pratique à plus de 90 p. 100. Cette méthode semble offrir toutes garanties contre les empoisonnements secondaires sur Gibier.

INTRODUCTION

Ce procédé de lutte est utilisé en Californie sur les retenues d'eau artificielles servant de réservoir pour l'irrigation. Employé de façon permanente avec, comme appât empoisonné, des céréales au coumafène, on estime qu'il permet de réduire de 80 à 90 p. 100 le niveau moyen des populations (T. L. STORER, 1965 ; R. E. TALBERT, 1962).

Il nous a paru intéressant d'essayer d'adapter cette technique à la lutte contre

l'*Ondatra* dans les étangs en régions de chasse. Plusieurs raisons justifient ce choix :

— c'est une technique d'une utilisation simple ;
— elle offre la possibilité d'un contrôle permanent ou semi-permanent des populations ;
— les risques d'accidents sur gibier sont pratiquement nuls.

Nous nous sommes proposés de mesurer l'efficacité pratique, c'est-à-dire le taux de destruction, d'un traitement de courte durée effectué au moyen de radeaux à la fin de l'automne.

Les radeaux furent fabriqués en contre-plaqué extérieur et recouverts d'une couche de vernis marin (cf. fig. 1). Une plaque de polystyrène expansé fixée sous la plate-forme assure la flottabilité du dispositif. Des ressorts ou des crochets maintiennent l'abri sur le plateau. L'ensemble possède une bonne stabilité et résiste bien aux intempéries.

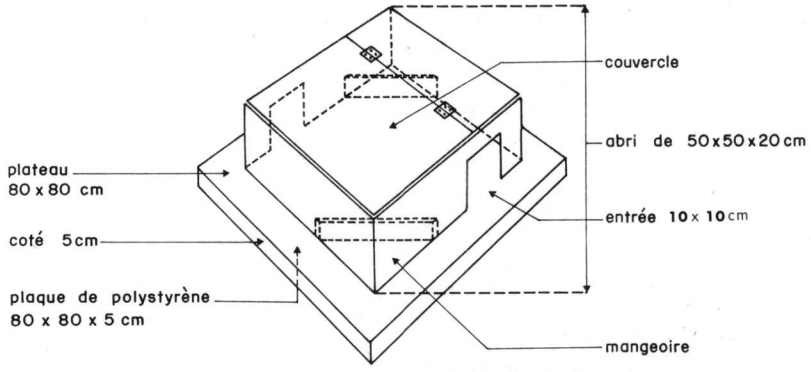


FIG. 1. — *Schéma d'un radeau d'empoisonnement*
(prototype essayé)

II. — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Les essais se sont déroulés sur deux étangs du Loir-et-Cher pendant les mois de novembre et décembre 1970. Ils ont comporté 3 phases :

— mise en place des radeaux et préparation des contrôles (1) (23 au 26 novembre) ;
— empoisonnement (27, 28 et 29 novembre) ;
— contrôle des résultats (7 au 12 décembre).

En vue d'obtenir une évaluation correcte de l'efficacité pratique, nous avons utilisé simultanément plusieurs procédés de contrôle :

1. — *Mesure de la consommation d'appâts non empoisonnés avant et après traitement*

Les radeaux furent appâtés à la carotte fraîche (1 kg de carottes coupées en rondelles par radeau) pendant 3 jours avant et pendant 1 jour après le traitement. La consommation journalière était estimée à partir du poids des résidus non consommés.

(1) Marquage. Mesure de la consommation d'appâts non empoisonnés. Relevé d'indices d'activité.

2. — *Recensement de la population avant le traitement*

Pendant 3 jours les rats furent capturés à la nasse et marqués par une tonte locale de la fourrure. Après le traitement, on dénombra les individus marqués présents parmi les cadavres retrouvés aux abords de l'étang et dans les captures du piégeage final. L'application de l'index de Lincoln nous a permis d'estimer le niveau de la population initiale.

3. — *Observation de divers indices d'activité*

La pose de compteurs de passage à la gueule d'un certain nombre de terriers nous a fourni un indice de fréquentation. En outre, l'observation de la circulation des rats sur l'eau pendant 1/4 d'heure à la tombée de la nuit a constitué un deuxième repère.

4. — *Piégeage final*

L'expérience a pris fin par un piégeage exhaustif permettant de capturer les survivants. L'empoisonnement fut effectué à l'aide de carottes coupées en rondelles et enrobées d'une solution huileuse à 0,25 p. 100 de chlorophacinone, à la dose de 20 cm³/kg d'appâts, soit 0,005 p. 100 de matière active. Les radeaux étaient approvisionnés avec 1 kg de carottes et les appâts furent renouvelés 2 fois.

III. — RÉSULTATS

Les deux étangs choisis pour cette expérience avaient les caractéristiques suivantes :

Étang des Bergeonnières (commune de Courmemin - 41) (voir fig. 2) :

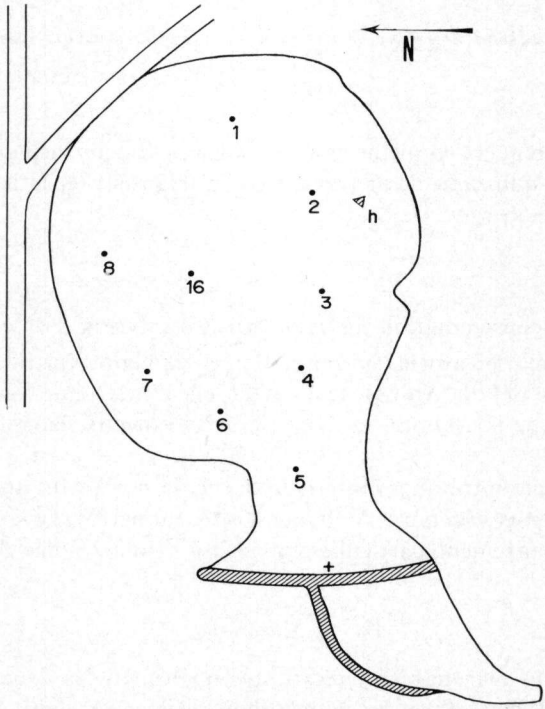


FIG. 2. — *Schéma de l'étang des Bergeonnières avec l'emplacement des radeaux* (.)
+ = bonde de l'étang *h* = hutte échelle = 1/2 500

— surface : 6 ha ;
— très peu de végétation ; une seule grosse hutte, plus quelques ébauches;
— 9 radeaux.

Étang de Chatillon (commune de 41 - Fontaines-en-Sologne) (voir fig. 3) ;

— surface : 4,10 ha ;
— roselière importante sur les bords et dans la queue de l'étang ;
— 7 radeaux.

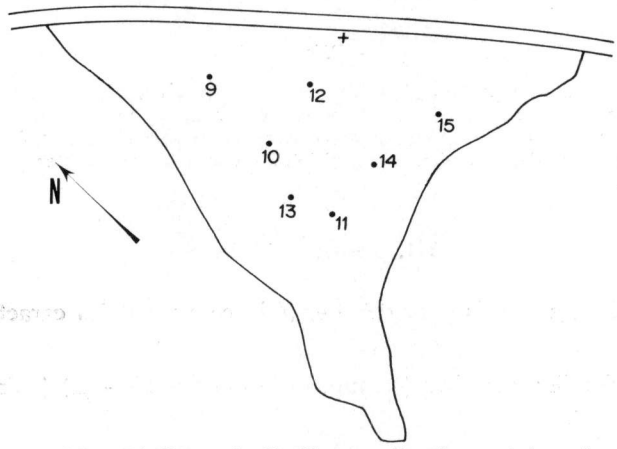


FIG. 3. — *Schéma de l'étang de Chatillon avec l'emplacement des radeaux* (.)
+ = bonde de l'étang
échelle = 1/2 500

Amarrés à des piquets en pleine eau, les radeaux étaient disposés en bordure de la roselière ou à une quinzaine de mètres des rives. Ils furent répartis à peu près régulièrement le long des berges.

A. — *Consommation*

Les relevés de consommation figurent dans les tabeaux 1 et 2.

Sur de nombreux radeaux la consommation en 24 heures fut totale ; les résultats sont donc donnés par défaut. Après le traitement, elle est devenue très faible, accusant une baisse de 93 et 92 p. 100 Sur les deux tiers des radeaux, la consommation était nulle.

On a constaté en outre qu'à l'intérieur et sur de nombreux abris, les Ondatras entassaient des détritus végétaux. A chaque visite, un nettoyage complet du radeau s'imposait. Ce comportement particulier fut utilisé comme indice d'activité supplémentaire.

B. — *Marquage*

Les résultats des marquages et recaptures opérés sur les deux étangs figurent dans le tableau 3. P_1 et P_2 étant les populations initiales des deux étangs, l'application de l'index de Lincoln donne les nombres suivants :

TABLEAU I

Consommation d'appâts non empoisonnés sur l'étang des Bergeonnières

Date	Radeau n°									Total par radeau (g)
	1	2	3	4	5	6	7	8	16	
23-24	500	1 000	940	350	930	690	890	1 000	—	787,5
24-25	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	600	750	1 000	—	918,5
25-26	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	530	815	880	913,8
Total	2 500	3 000	2 940	2 350	2 930	2 290	2 170	2 815	880	873,3
Traitement										
7-8	0	200	150	200	0	0	0	0	0	68

TABLEAU 2

Consommation d'appâts non empoisonnés sur l'étang de Chatillon

Date	Radeau n°							Total par radeau (g)
	9	10	11	12	13	14	15	
23-24	1 000	1 000	550	150	350	1 000	0	570
24-25	670	1 000	1 000	610	520	190	380	600
25-26	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	730	1 000	960
Total	2 670	3 000	2 550	1 760	1 870	1 920	1 380	721,4
Traitement								
7-8	100	0	0	0	0	0	250	50

Étang des Bergeonnières.

$$\frac{16}{P_1} = \frac{5}{24} \text{ d'où } P_1 = 77 \text{ rats.}$$

Étang de Chatillon.

$$\frac{6}{P_2} = \frac{3}{34} \text{ d'où } P_2 = 68 \text{ rats.}$$

TABLEAU 3

Résultats des marquages et des recaptures

M_1 = animaux marqués,
C_2 = animaux trouvés morts ou capturés au piège,
M_2 = animaux de C_2 marqués.

	Étang des Bergeonnières	Étang de Chatillon
M_1	16	6
C_2	24	34
M_2	5	3

C. — *Indices d'activité*

Les observations portant sur les indices d'activité sont rarement en rapport direct avec le nombre d'animaux présents. Cependant, sans permettre de mesurer une variation de population, ces indices en indiquent malgré tout le sens. En effet, les compteurs posés aux terriers indiquaient une baisse sensible d'activité (75 et 44 p. 100). De même, l'observation directe à la tombée de la nuit s'est révélée négative après l'empoisonnement alors qu'avant de nombreux rats étaient aperçus circulant sur l'eau. Enfin, lors du réappâtage de contrôle, on a pu constater que les radeaux étaient presque propres. Toutes ces observations vont donc dans le sens d'une baisse de population.

D. — *Piégeage*

Le piégeage final survenu une douzaine de jours après la 1re application de poison a permis la capture de 4 rats sur l'étang des Bergeonnières et de 10 rats sur l'étang de Chatillon. L'autopsie a cependant révélé que 2 des 4 rats capturés sur le 1er étang et 7 des 10 capturés sur le second présentaient des signes d'empoisonnement (hémorragies diverses).

E. — *Calcul de l'efficacité pratique*

Si l'on considère que la diminution de la consommation est liée directement à la chute du niveau des populations, on peut exprimer l'efficacité du traitement par la variation relative de la consommation mesurée.

Dans cette hypothèse, l'efficacité est la suivante :

$$\text{Étang des Bergeonnières} = \frac{805}{873} = 0{,}92 \quad \text{soit} \quad 92 \text{ p. } 100 ;$$

$$\text{Étang de Chatillon} = \frac{671{,}4}{721{,}4} = 0{,}93 \quad \text{soit} \quad 93 \text{ p. } 100.$$

Ces valeurs sont sans doute sous-estimées en raison de l'insuffisance des quantités d'appâts offerts.

En utilisant la variation des niveaux des populations du rat musqué à la suite du traitement, on peut calculer l'efficacité pratique, pour autant que cette variation soit elle-même connue avec une bonne approximation.

En dépit de la haute densité de pièges posés, on estime que le piégeage final ne capture que 90 p. 100 des survivants. Dans ces conditions, les populations résiduelles des 2 étangs sont les suivantes :

$$\frac{4 \times 100}{90} = 5 \text{ rats pour l'étang des Bergeonnières ;}$$

$$\frac{10 \times 100}{90} = 11 \text{ rats pour l'étang de Chatillon.}$$

La variation des populations est donc de $77 - 5 = 72$ rats pour le 1er étang et de $68 - 11 = 57$ rats pour le second. Les efficacités pratiques sont donc respectivement :

$$\frac{72}{77} = 0{,}935 \quad \text{soit} \quad 93{,}5 \text{ p. } 100 ;$$

$$\frac{57}{68} = 0{,}850 \quad \text{soit} \quad 85 \text{ p. } 100.$$

L'autopsie nous indique cependant que 2 rats dans le 1er cas et 7 dans le second, présentent des symptômes d'empoisonnement permettant de considérer ces individus comme des « condamnés ». Dans ces conditions, l'efficacité passe à 96 p. 100 sur l'étang des Bergeonnières et à 95 p. 100 sur l'étang de Chatillon.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par les consommations et nous retiendrons que dans les deux cas l'efficacité pratique est très probablement supérieure à 90 p. 100.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Les différentes méthodes utilisées pour estimer l'efficacité pratique donnent des résultats convergents et des valeurs très voisines pour celles que l'on peut chiffrer. Ces résultats appellent cependant quelques critiques.

Nous avons vu que l'absence de résidus de consommation a dû entraîner une sous-estimation de l'efficacité. Comme il est difficile d'augmenter la quantité d'appâts par radeau, il serait peut-être préférable d'augmenter leur nombre.

On connaît mal la fraction de la population touchée par l'appâtage. Il se peut que certains animaux n'aient pas accès aux appâts, pour des raisons de hiérarchie sociale, ou évitent les radeaux. Ceci entraîne donc une incertitude dans l'estimation de l'efficacité.

La mesure directe de la variation du niveau de la population, de façon absolue ou relative, est sans doute le meilleur moyen d'évaluer l'efficacité d'un traitement.

Cependant, la connaissance de la population initiale n'est pas très aisée. L'application de l'Index de Lincoln ne peut se faire que dans la mesure où le piégeage des animaux est facile et les captures suffisamment nombreuses. Tel n'est pas toujours le cas.

D'autre part, la récolte des cadavres sur les abords de l'étang après l'empoisonnement doit fournir un échantillon assez volumineux. Les étangs à roselière importante sont à cet égard peu favorables.

Remarquons enfin que les délais entre l'empoisonnement et les contrôles (12 j) étaient sans doute un peu courts. En effet, le nombre important d'animaux malades capturés au piégeage final indique que les morts s'étalent sur une période supérieure à 10-12 jours. Mais, inversement, plus le délai entre l'empoisonnement et les contrôles est long, plus il y a de risque de voir réoccuper les places vides créées par les morts.

Cette méthode de destruction du Rat musqué sur radeaux semble présenter un intérêt certain à l'époque envisagée (fin d'automne-début hiver). On peut estimer son efficacité pratique à 90 p. 100 au moins. La présence de Canards et de Foulques sur les étangs nous a permis de constater en outre la parfaite sécurité qu'elle offrait quant aux risques d'accidents sur les autres espèces.

Reçu pour publication en juillet 1972.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre reconnaissance à M. J. de VERGNETTE, Chef du Service forestier à la D. D. A. du Loir-et-Cher, ainsi qu'à la Société de Lutte contre le Rat musqué de ce département, pour la collaboration qu'ils n'ont cessé de nous accorder pour toutes nos études. Nos remerciements vont également à MM. SUBRA PASNON et BESNARD qui nous ont apporté leur aide constante pour la réalisation des essais en Sologne.

SUMMARY

DESTRUCTION TRIALS OF THE MUSKRAT, *ONDATRA ZIBETHICA* L., IN PONDS USING POISONING RAFTS

Two muskrat (*Ondatra zibethica* L.) destruction trials were carried out using poisoning rafts (fig. 1) in ponds in the Loir-et-Cher department (fig. 2 and 3).

Practical efficiency of this measure was computed from the following :

a) measurement of intake before and after treatment using unpoisoned bait (tables 1 and 2),

b) estimation of the original population level using Lincoln's Index method. Muskrats were captured in traps and labelled by partial shearing of the fur. Labelled animals found among the deads along the shores of the pond and in final trapping were then counted (table 3),

c) observation of various types of activity such as frequentation of different burrows and water surface activity at night,

d) final trapping.

Poisoning was done with carrots cut in rounds and coated with a 0.25 p. 100 oily solution of chlorophacinone. The dose was 20 cm^3 per kg of bait, or 0.005 p. 100 active matter.

The results obtained by these different methods agree, and practical efficiency may be estimated at more than 90 p. 100. This method seems to offer complete guarantee that secondary poisoning of game does not occur.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

MARSH R. E., 1965. Methods of controlling rodents and birds in rice fields. *Congrès Protection cultures tropicales*, Marseille, 23-27 mars 1965, 633-637.

STORER T. L., 1958. Controlling field rodents in California. *Calif. Agric. Exper. Sta. Circ.*, 434 (Davis), 50 p.

STORER T. I., JAMESON E. W., 1965. Control of field rodents on California farms. *Calif. Agric. Exper. Sta. Circ.*, 535, 50.

TALBERT R. E., 1962. Controling Muskrats. *Proc. Vertebrate Pest Control Conf. Sacramento*, Feb. 1962, 164-171.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 129-137.

NOTE TECHNIQUE

MISE AU POINT D'UN APPAREIL DE TRANSFERT POUR SÉPARER LES SOCIÉTÉS DE FOURMIS (HYMÉNOPTÈRES, *FORMICIDAE*) DU SUBSTRAT DE LEUR NID

A. BENOIS
avec la collaboration technique de R. AGRYODOS

Station de Recherches de Lutte biologique et de Zoologie
Centre de Recherches, I. N. R. A.,
06602 Antibes

RÉSUMÉ

Les études concernant la biologie, le comportement ou l'efficacité de toxiques sur les fourmis complètent les données acquises sur le terrain. Ces expérimentations de laboratoire nécessitent la récolte et le tri de nombreuses sociétés prélevées dans la nature. La séparation des individus adultes et du couvain à partir du substrat de leur nid est une opération longue et fastidieuse. La mise au point d'un appareil de transfert a permis de rendre ce tri automatique, indépendamment de l'espèce et de la nature des matériaux de la fourmilière.

I. — DIFFICULTÉS DE RÉCOLTE ET DE TRI, LIÉES A LA NATURE DES NIDS

Les milieux de nidification des fourmis ainsi que la nature des matériaux utilisés diffèrent beaucoup d'une espèce à l'autre.

Quelques exemples peuvent illustrer cette diversité :

— espèces terricoles à nids minés dans la terre ou le sable, couverts d'une pierre ou d'un simple dôme ;

— nids à architecture composée, formés de matériaux meubles (aiguilles de pin, tiges et brindilles entrelacées) reposant sur une partie minée en terre;

— nids sculptés dans le bois mort ou l'écorce, pour les espèces lignicoles. Ou bien utilisation de cavités pré-existantes (brindilles, rameaux, galles) ;
— maisons et entrepôts pour les espèces envahissantes.

Enfin, une même espèce peut utiliser différents matériaux pour établir des nids semi-permanents suivant l'emplacement, l'importance des sources de nourriture et la saison. Cet exemple nous est fourni par *Iridomyrmex humilis* MAYR., la fourmi d'Argentine.

Du fait de la nature et de la plus ou moins grande dureté des matériaux utilisés, la récolte d'une société implique une récolte mécanique suivie d'une séparation. Cette méthode se heurte à de nombreuses difficultés techniques :

— la durée de l'opération sur le terrain, surtout si le nid est profond et la roche-mère superficielle.
— certains matériaux comme le bois ou les agglomérés sont difficilement dissociables et leur séparation peu causer des chocs ou lésions ;
— les manipulations longues entraînent souvent des fuites d'ouvrières et de sexués, surtout dans le cas de colonies importantes et très actives ;
— enfin, la récolte la plus simple à l'aide de l'*aspirateur à bouche* est valable pour récolter de petites colonies ou des individus isolés, mais elle est mal adaptée dès qu'il s'agit d'effectifs importants.

Bien que divers perfectionnements aient été apportés à l'aspirateur classique (MATTESON, 1965), certaines difficultés rencontrées rendent l'aspiration pénible : poussières, mottes de terre humide, sécrétions de défense (acide formique, iridomyrmecine, etc...).

D'autre part, du point de vue expérimental, ce type de récolte entraîne une mortalité importante pour les espèces les plus fragiles, consécutive aux chocs contre les parois et à la forte concentration de substances volatiles de défense à l'intérieur du tube.

Du fait de ces nombreux inconvénients, les opérations ont été scindées en deux parties :

1° *sur le terrain*, on effectue la récolte de la presque totalité de la fourmilière que l'on maintient en sac plastique ou en cage pendant le transport. Les individus isolés sont prélevés à l'aide d'un aspirateur à piles.

2° *Au laboratoire*, le tri définitif est obtenu par migration rapide des différentes castes et du couvain dans un nid d'élevage.

II. — PRINCIPE DE SÉPARATION DE SOCIÉTÉS DE FOURMIS DU SUBSTRAT DE LEUR NID

Tous les matériaux d'une même fourmilière récoltée sur le terrain sont introduits en vrac dans un appareil à fond grillagé. Des résistances chauffantes situées en dessous assurent le dessèchement progressif du substrat.

Le milieu devient de plus en plus défavorable (sec et chaud), ce qui entraîne une augmentation d'activité des ouvrières. Deux nids en plâtre de type « Janet », maintenus très humides, sont mis en relation avec ce dispositif. Ils constituent un milieu favorable car ils assurent un abri humide et obscur.

De ce fait, le piégeage des différents membres de la société est assuré. Il ne s'agit pas d'une simple fuite car les ouvrières qui ont découvert les loges du nid en plâtre reviennent dans la cage chercher le couvain et les sexués.

On obtient ainsi une séparation entre ouvrières, sexués et couvain d'une part, et les matériaux constituant leur nid d'origine d'autre part.

Ce passage dure plus ou moins longtemps selon l'importance de la colonie et l'humidité du substrat mais le couvain récupéré est très propre et débarrassé de toute souillure de terre ou de sciure de bois.

III. — UTILISATION D'UNE CAGE DE TRANSFERT HERMÉTIQUEMENT CLOSE

L'étude biologique d'une espèce lignicole : *Camponotus vagus* SCOP. m'a conduit dès 1966 à séparer de nombreuses colonies de leur substrat, en me basant sur ce principe (BENOIS, 1969).

Les souches ou portions de troncs constituant le nid ont été introduits dans une cage de plexiglass à fond grillagé (L = 730 mm, l = 400 mm, H = 400 mm) chauffée à 40 — 45°C et mise en relation avec deux nids en plâtre.

Ce type de passage m'a donné de bons résultats avec cette espèce. Par contre, l'ayant essayé ensuite avec des espèces terricoles comme *Lasius* sp. et *Iridomyrmex humilis* MAYR., le passage a été moins franc et souvent retardé du fait de l'atmosphère humide qui se maintenait dans la cage.

IV. — CARACTÉRISTIQUES DE L'APPAREIL DE TRANSFERT UTILISÉ PAR MARKIN

Toujours sur le même principe, MARKIN (1968) a réalisé, en Californie, la séparation de deux espèces de fourmis de petite taille et aux colonies très populeuses : *I. humilis* et *Solenapis saevissima richteri* FOREL., mais en utilisant un compartiment à ciel ouvert.

Ce dispositif présente l'avantage d'être mieux aéré ce qui évite les condensations sur les parois. Ainsi, le passage est plus rapide et l'appareil présente un spectre d'utilisation plus grand.

L'appareil est constitué par deux compartiments chauffants (de 450 × 600 × 100 mm) à fond grillagé. Les parois sont tapissées d'un anneau de nichrome suivant le type Flanders, 1945. Cet anneau constitue une barrière chauffante pouvant atteindre 60°C, ce qui évite les fuites, tout en laissant le dispositif ouvert.

Les matériaux du nid sont disposés en couche mince pour permettre une dessiccation rapide. Un nid collecteur en plâtre repose sur les matériaux en voie de dessèchement, au centre du compartiment. Ce nid est formé de l'empilement de disques de 10 cm de diamètre sur 1 cm d'épaisseur avec une légère dépression de 5 mm. Un trou central assure la communication entre les différentes chambres constituées par l'empilement de ces disques.

L'extraction des fourmis du nid naturel nécessite environ 24 heures. Celles-ci sont ensuite récupérées après passage au gaz carbonique.

V. — DESCRIPTION ET CARACTÉRISTIQUES D'UTILISATION DE L'APPAREIL DE TRANSFERT A CIEL OUVERT

Malgré sa plus grande gamme d'utilisation, l'appareil de Markin présente encore quelques imperfections qui en limitent l'emploi. C'est pourquoi nous avons conçu à partir de ce type, un nouvel appareil dont les caractéristiques générales sont les suivantes :

Il se compose de trois parties superposées (fig. 1 et 2). On distingue de haut en bas :

— une hausse ouverte avec résistances périphériques pour éviter les fuites d'ouvrières.

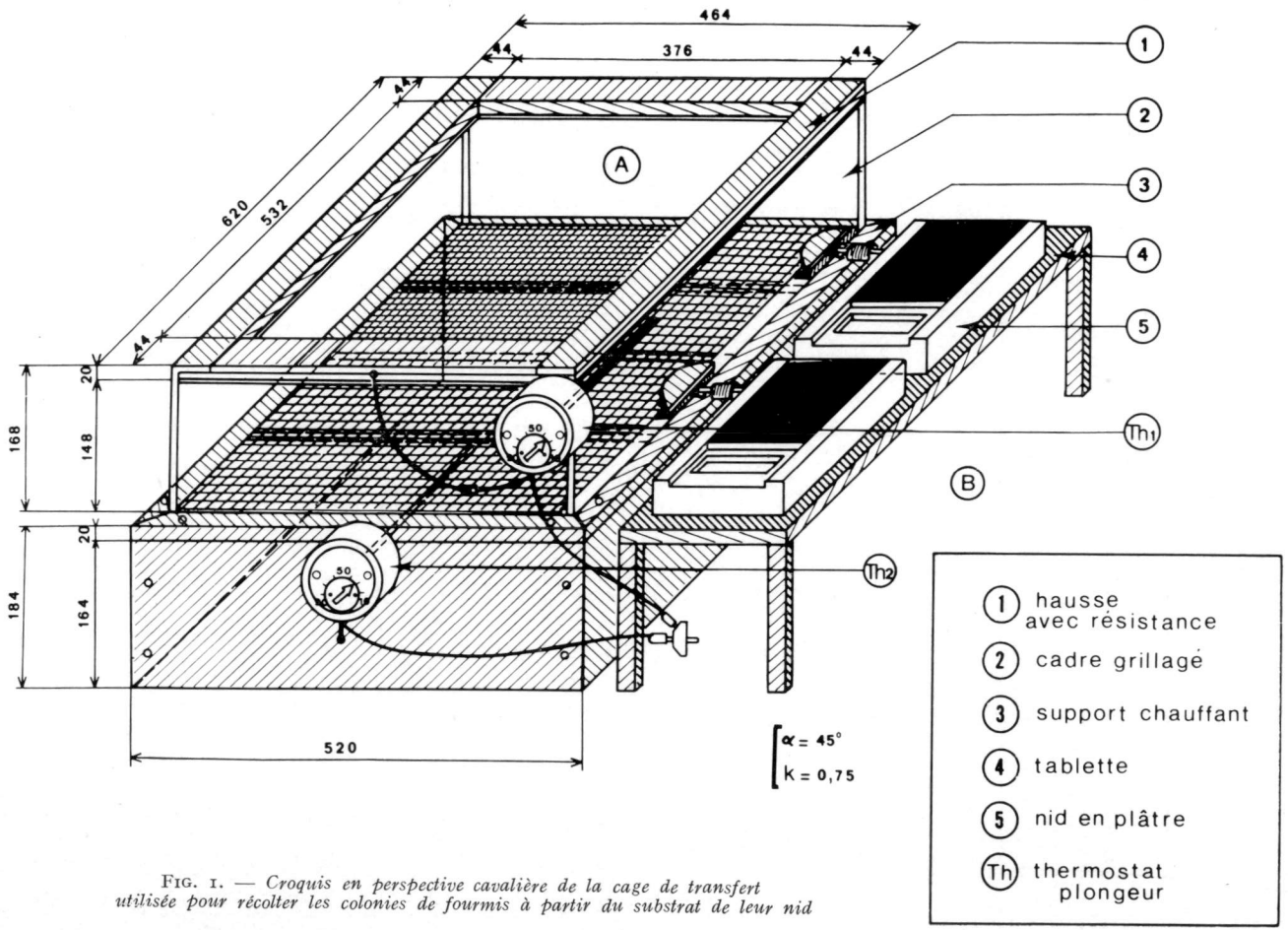


FIG. 1. — *Croquis en perspective cavalière de la cage de transfert utilisée pour récolter les colonies de fourmis à partir du substrat de leur nid*

— un cadre à fond grillagé qui reçoit les matériaux du nid ;
— un support chauffant permettant la dessiccation du substrat.

Sur l'une des faces du cadre sont percés deux trous pour permettre le passage des ouvrières vers les nids en plâtre qui reposent sur une tablette, extérieure à l'appareil.

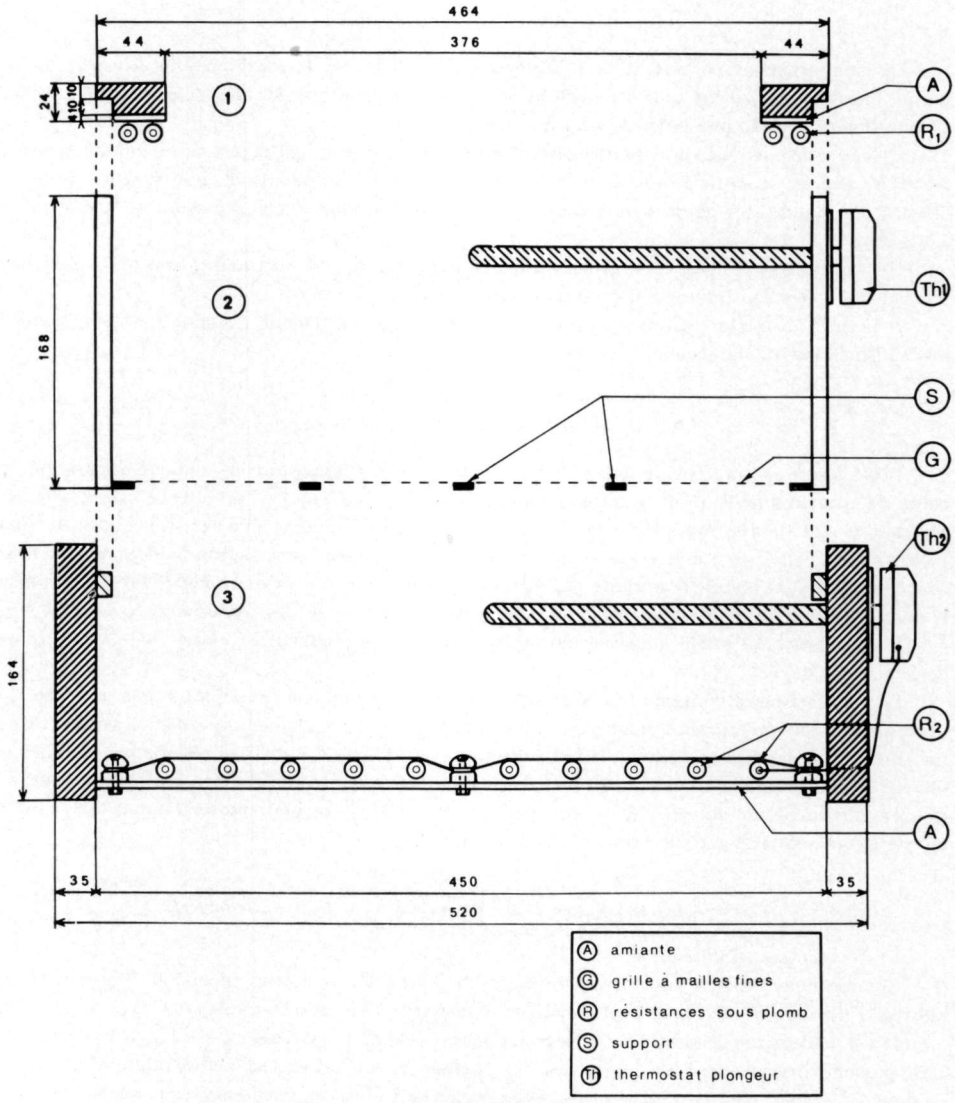


FIG. 2. — *Cage de transfert de fourmis*
Coupe transversale

A. — *Le cadre à fond grillagé*

Il constitue la partie intermédiaire de l'appareil dans laquelle on verse la totalité de la récolte.

Ce compartiment est un parallélépipède rectangle de 620 × 464 × 148 mm, dont les parois sont en plexiglass de 10 mm d'épaisseur.

Le fond est formé d'une toile grillagée à mailles très fines. Trois barres métalliques équidistantes empêchent la déformation de la toile et renforcent sa solidité. Il est possible de disposer de la terre sur 1 à 5 cm d'épaisseur ou bien des portions de tronc de 50 cm de long sans risque de détérioration de cette toile grillagée.

B. — *La hausse*

Le compartiment contenant la fourmilière n'empêche pas les ouvrières de grimper sur les parois bien qu'elles soient parfaitement lisses. Comme l'a indiqué MARKIN, l'emploi de talc ou de paraffine n'est pas une barrière suffisamment efficace.

Un cadre de bois de 20 mm d'épaisseur et de 44 mm de large, aux dimensions du compartiment, recouvre celui-ci. A sa face inférieure, il possède une couche d'amiante et une double rangée de résistances chauffantes gainées ou plomb (R 1). Seules les deux extrémités sont séparées de 30 à 40 mm.

Un thermostat (Th. 1) est fixé sur la face antérieure du compartiment. Son tube plongeur se trouve à deux centimètres en dessous des résistances.

Il permet de régler la température et d'éviter un échauffement exagéré : la température est habituellement maintenue à 45-50°C.

C. — *Le support chauffant* (fig. 2 et 3)

Il est formé de quatre panneaux de bois dont les dimensions sont légèrement supérieures à celles du compartiment (*a*) de 35 mm de chaque côté, ce qui permet d'emboîter le cadre grillagé. Sa hauteur est de 164 mm. Un « faux fond » en amiante supporte une résistance gainée sous plomb (R 2) d'environ 3 mètres de long dont le tube est disposé en serpentin (fig. 3). Cette résistance est fixée à la plaque d'amiante par des isolants en porcelaine et deux fils de fer. Elle assure le chauffage de l'ensemble et permet une dessication progressive des matériaux du nid.

La résistance est reliée à un thermostat (Th. 2) dont le plongeur est situé juste en dessous de la toile grillagée.

Le compartiment contenant la fourmilière est relié à chaque nid en plâtre par un tube de verre et un bouchon en caoutchouc percé au centre. Au niveau de la communication avec le tube, un abri semi-circulaire en contre-plaqué évite un excès de chaleur dû aux résistances (R 1). Les ouvrières s'amassent sous cet abri, en face des orifices de passage. Le tube de verre reliant l'orifice du compartiment au nid en plâtre est recouvert de toile noire pour éviter les hésitations des ouvrières au moment où elles franchissent ce tunnel.

D. — *Caractéristiques d'utilisation de l'appareil de transfert*

1. *Température d'utilisation.*

Comme nous l'avons vu au paragraphe 2, la température choisie dépend de l'humidité du substrat, du volume de matériaux constituant la fourmilière et des impératifs expérimentaux.

Il est nécessaire également d'effectuer quelques essais préalables en fonction de l'espèce à faire passer ; certaines fourmis comme les *Camponotus*, les *Lasius* et *Tapinoma*, migrent très rapidement ; d'autres, comme *Iridomyrmex humilis* mettent plus longtemps avant de découvrir l'orifice de passage vers les nids. Les transferts sont effectués généralement à la température de 33°C. On utilise une température de 40-45°C seulement dans des conditions bien précises et pendant une durée limitée.

2. *Accélération du passage.*

a) en dehors de l'élévation de température, tout ce qui facilite la dessiccation du substrat accélère le passage :

— l'émiettement des mottes de terre ;

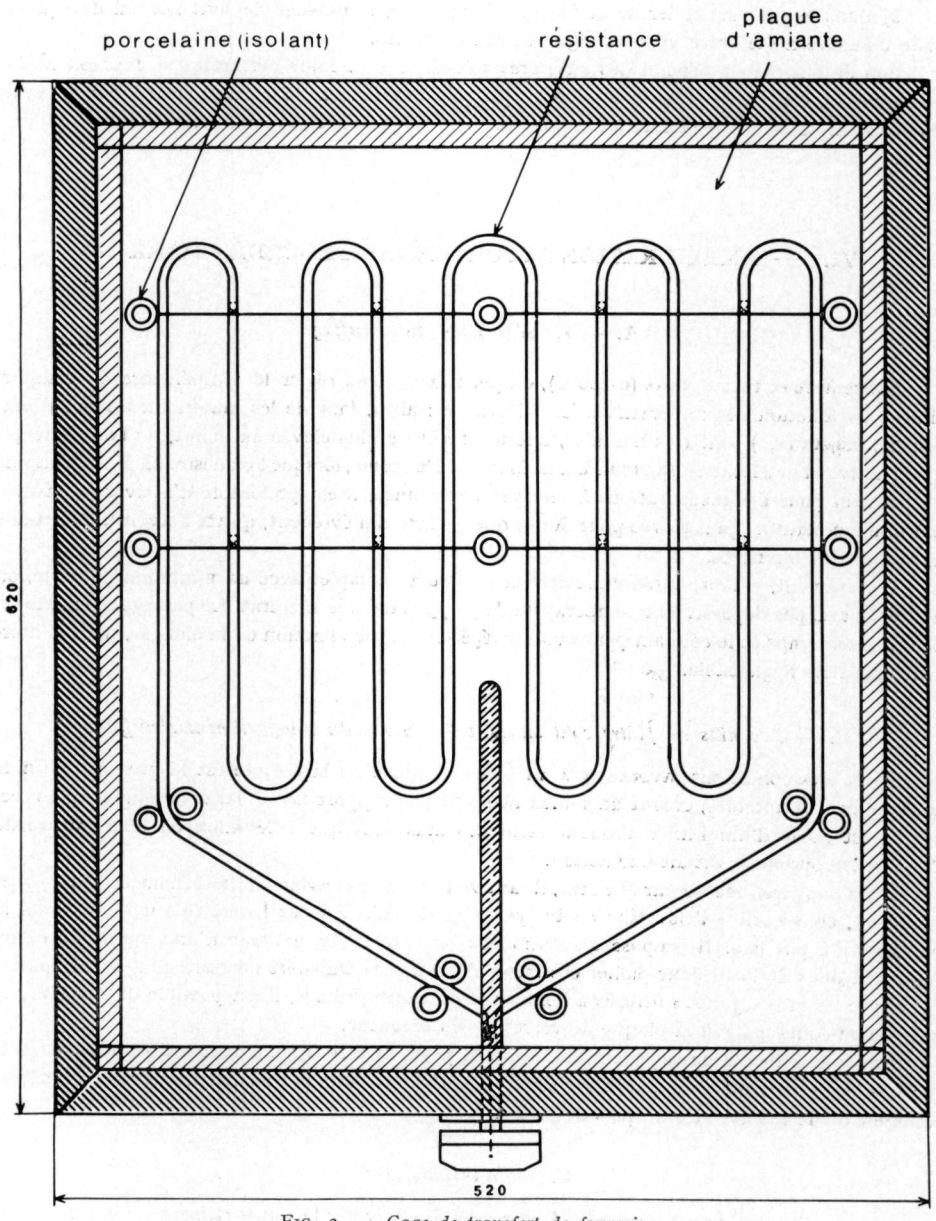


FIG. 3. — *Cage de transfert de fourmis*
Vue de dessus du support chauffant

— l'enlèvement de l'écorce des portions de troncs ;
— le brassage de la terre pour l'homogénéiser ;
— le recouvrement partiel de la hausse avec un carton, pour accélérer la dessiccation superficielle ;

b) dans le cas particulier de la fourmi d'Argentine, le passage devient normal dès qu'une piste olfactive a été créée vers les loges du nid en plâtre.

Son établissement dépend des ouvrières « éclaireuses ». Pour permettre la création rapide de ces pistes, il suffit de prélever au départ quelques ouvrières avec un aspirateur à bouche et de les introduire dans la loge située à l'opposé de l'orifice d'entrée dans le nid en plâtre.

VI. — AMÉLIORATION APPORTÉES AU PROCÉDÉ « MARKIN »

A. — *La régulation du chauffage*

Grâce à deux thermostats (0-100°C), on peut facilement régler la température du compartiment en fonction des impératifs fixés à l'avance : ainsi, lorsque les matériaux du nid (terre, souche, végétaux...) sont très humides, une température plus élevée au début, de l'ordre de 40-45°C, active la dessiccation sans nuire aux fourmis. De même, lorsque l'on désire un passage rapide du couvain pour des mensurations à une période donnée, il est préférable d'activer le passage par une température plus élevée pour éviter que les larves n'évoluent, quitte à avoir une certaine mortalité des ouvrières.

Inversement, si l'on souhaite récolter la colonie au complet avec un minimum de perte, on a intérêt à ne pas dépasser une température de 30-33°C dans le substrat. Le passage demande un peu plus de temps et le couvain peut évoluer légèrement sous l'action de la chaleur, mais la mortalité est alors négligeable.

B. — *Les nids en plâtre sont situés à l'extérieur du compartiment chauffant*

L'une des conditions favorables à un passage rapide de la colonie est la présence de nids collecteurs très humides, créant un milieu attractif par rapport au substrat de plus en plus sec.

Il est facile d'humidifier abondamment ces nids sans que l'élévation de température de l'appareil proprement dit ait une action.

Dans l'appareil réalisé par MARKIN, il faut veiller à ne pas avoir un dessèchement des disques de plâtre, consécutif à l'élévation de température du substrat sur lequel ils reposent, sinon le piégeage n'a pas lieu. Il propose d'ailleurs une humidification à l'aide d'une mèche de coton trempant dans de l'eau pour pallier cet inconvénient, si le transfert nécessite plus de 24 heures.

Avec les nids « Janet » utilisés à l'extérieur du cadre grillagé, il est possible de surveiller le passage en cours grâce à la plaque de verre qui les recouvre.

Enfin, une fois le passage terminé, ces nids peuvent être directement utilisés ou branchés sur une cage sans obligation d'intervenir avec du gaz carbonique pour endormir les ouvrières, comme c'est le cas avec les disques de plâtre.

C. — *Manipulations*

Lorsque l'opération est terminée, il est nécessaire de vider le compartiment de son contenu.

Ce nettoyage est facilité par la présence d'un cadre et d'une hausse amovibles. Les fils électriques reliant les résistances aux thermostats peuvent également être séparés grâce aux raccords prévus à cet effet. De même, les résistances gainées sous plomb sont robustes et faciles à nettoyer sans risques de détérioration au moment du dépoussiérage.

VII. — CONCLUSION

Comme nous avons pu le constater par ces quelques exemples, cet appareil possède une grande plasticité d'emploi, du fait des réglages précis de température. Son utilisation pour le tri de fourmis ne pose aucun problème quels que soient les types de nidification, la taille des ouvrières et l'importance des colonies. Elle permet une séparation rapide sans manipulation du couvain délicat ce qui fait que les pertes sont minimes.

On conçoit facilement qu'il soit possible de généraliser l'emploi de ce procédé pour la séparation de divers autres arthropodes de leur milieu (xylophages, terricoles ou des denrées) à condition qu'ils ne volent pas. Sinon, on pourra éventuellement adopter la cage de transfert hermétiquement close (chap. 3).

Reçu pour publication en juillet 1972.

SUMMARY

A METHOD TO SORT THE ADULTS AND THE BROOD FROM THE MATERIALS OF THEIR NESTS IN ANT SOCIETIES

In this paper, we describe a method that allows the sorting of the adults and the brood from the materials of their nests, in ant societies.

We use the same technique as MARKIN, but with some improvements.

The colony, after being gathered in bulk on the ground, is laid down in a compartment, the bottom of which is made of wire-netting and set above heating resistances that make the whole gradually dry. A controlled raising of the temperature will head the members of the colony towards some near-by artificial plaster nests.

By this way, an automatical sorting of large colonies is got in a few hours, whatever the materials that form the nests and the size of the workers or the mass of the colony.

According to the fact that the temperature can be accurately adjusted, it is possible to apply this technique to a lot of other arthropods that must be separated from their environment (xylophagous, living in the ground or in foodstuffs).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BENOIS A., 1969. *Étude morphologique, biologique et éthologique de* Camponotus vagus SCOP. (= *pubescens* FAB.) (Hyménoptères, Formicidae). Thèse 3e cycle, Toulouse, 280 pp. dactylographiées.

FLANDERS S. E., 1945. A barrier for confining crawling organisms. *J. Econ. Ent.*, **38**, 495.

MARKIN G. P., 1968. Handling techniques for large quantities of ants. *J. Econ. Ent.*, **61**, 1744-1745.

MATTESON J. W., 1965. A modified aspirator for collecting small arthropods. *J. Econ. Ent.*, **58**, (5), 1031-1032.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1), 139-141.

NOTE TECHNIQUE

NOTE SUR LA TOXICITÉ DE LA 2-CHLORO-4-TOLUIDINE A L'ÉGARD DE LA PERDRIX GRISE (*PERDIX PERDIX* L.) ET DE LA PERDRIX ROUGE (*ALECTORIS RUFA* L.)

G. GROLLEAU et G. PARIS

Laboratoire des Petits Vertébrés,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas

RÉSUMÉ

Deux dérivés de la toluidine sont utilisés aux États-Unis dans la lutte contre les étourneaux. En vue d'une éventuelle utilisation en France de tels produits, la sensibilité de nos deux espèces de perdrix à leur égard a été étudiée. Le risque théorique paraît grand pour les perdrix.

Des dérivés de la toluidine ont été étudiés, aux États-Unis, pour la lutte contre l'Étourneau, *Sturnus vulgaris*, et un Ictéridé, *Agelaieus phoeniceus*, ces oiseaux se nourrissant au détriment du bétail lors des rassemblements hivernaux. Deux d'entre eux commencent à être utilisés en nature :

— 3-chloro-*p*-toluidine hydrochloride ou DRC 1339,
— 3-chloro-*p*-toluidine ou DRC 1347.

Ces dérivés présentent la particularité d'être très toxiques pour l'Étourneau (3 à 4 mg par kg), tandis que le Moineau domestique, *Passer domesticus* et différents rapaces y sont peu sensibles, ce qui réduit le risque d'accidents secondaires pour ces derniers (SCHAFER E. W., WEST R. R., CUNNINGHAM D. J., 1969). Par contre, les Columbidés et surtout les Phasianidés montrent une sensibilité assez proche de celle de l'Étourneau. En vue d'une éventuelle utilisation en France de tels produits avicides, nous avons cherché à connaître la sensibilité de nos deux espèces de Perdrix à l'égard de ce groupe de dérivés.

I. — CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

Nous avons utilisé, pour nos essais, un autre dérivé : la 2-chloro-4-toluidine, qui nous a été aimablement fourni par la Société Rhône-Poulenc. Ce dérivé se présentait sous forme d'un produit technique à 20 p. 100 de matière active. Étant insoluble dans l'eau et ne pouvant être mis en suspension, nous l'avons dissout dans de l'huile de vaseline. La solution ainsi obtenue, a été préparée de façon à ce que les quantités administrées ne soient pas inférieures à 1/4 de cm^3, afin de minimiser les erreurs matérielles lors des manipulations. L'administration aux Perdrix a eu lieu au moyen d'une sonde œsophagienne métallique type souris.

Les oiseaux utilisés étaient des Perdrix d'élevage adultes, bien acclimatées aux conditions de captivité. Les lots étaient composés, selon les disponibilités, en proportions inégales de mâles et de femelles.

II. — RÉSULTATS

Les résultats obtenus, sur des lots de 10 ou 15 individus, sont exprimés dans le tableau suivant :

Dose de m.a. administrée en mg/kg	Perdrix grises			Perdrix rouges		
	Sexe et nombre	Extrêmes des poids en g	Effet	Sexe et nombre	Extrêmes des poids en g	Effet
0,25				5 ♂ + 10 ♀	370-504	6 morts en 2 à 7 jours
0,50	1 ♂	368	survie	5 ♂ + 5 ♀	374-499	10 morts en 3 à 4 jours
1,00	9 ♂ + 1 ♀	281-348	2 morts en 3 jours	1 ♀	411	mort en 3 jours
2,00	6 ♂ + 4 ♀	295-343	8 morts en 2 à 4 jours	1 ♂	375	mort en 2 —
3,00	9 ♂ + 1 ♀	292-404	10 morts en 2 à 3 jours	1 ♀	456	mort en 1 —
5,00				1 ♀	492	mort en 1 —
10,00				1 ♀	392	mort en 1 —

Ces données ne nous permettent pas de calculer mathématiquement une DL 50 pour chacune de ces deux espèces, mais nous pouvons estimer grossièrement qu'elles se situent aux alentours de 1,5 mg par kg pour la Perdrix grise et seulement 0,25 mg par kg pour la Perdrix rouge qui se révèle ainsi extrêmement sensible à ce composé.

Les délais de mortalité sont assez comparables à ceux cités dans la litératture, pour l'Étourneau.

III. — RISQUE THÉORIQUE

La sensibilité de l'Étourneau aux dérivés utilisés aux États-Unis (DRC 1339 et DRC 1347), conduit à préparer des appâts à la teneur de 0,01 p. 100 de matière active. Une consommation de 2 à 3 g d'un tel appât est suffisante pour provoquer la mort d'un de ces oiseaux.

Si nous admettons que les deux Perdrix ont à l'égard du DRC 1339 et du DRC 1347 une sensibilité comparable à celle que nous avons trouvée pour la 2-chloro-4-toluidine, une consommation de 5 g d'appât par la Perdrix grise et de 1 à 2 g par la Perdrix rouge entraînerait la mort d'un individu de poids moyen. Or, un tel individu est susceptible de consommer respectivement 30 et 40 g. Le risque d'accident paraît donc théoriquement grand pour des Perdrix consommant des appâts empoisonnés destinés aux Étourneaux, à moins qu'une technique particulière d'utilisation de ceux-ci en écarte la possibilité.

Reçu pour publication en juillet 1972.

SUMMARY

NOTE ON THE TOXICITY OF 2-CHLORO - 4 - TOLUIDINE TOWARDS THE GREY PARTRIDGE (*PERDIX PERDIX* L.) AND THE RED LEGGED PARTRIDGE (*ALECTORIS RUFA* L.)

Two by products of Toluidine are used in the United States to control starlings. In view of a possible utilization of such products in France, our two species of partridges have been tested as to their sensitiveness to these products. The theoretical risk seems to be important for the partridges.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

APOSTOLOU A. Ph. D., 1969. Comparative toxicology of the avicides 3-chloro-*p*-toluidine and 2-chloro-4-acetotoluidine in birds and mammals. *Diss. Abst.*, **31**, 5, 2863-B.

BRAVERMAN Y., 1968. The toxicity of DRC-1339 (3-chloro-*p*-toluidine hydrochloride) for the African Bulbul (Pycnonotus capensis) as determined in laboratory experiments. *Refuah Veterinarith*, **25**, 4, 241-244.

DE CINO T. J., CUNNINGHAM D. J., SCHAFER E. W., 1966. Toxicity of DRC-1339 to starlings. *J. Wildlife Managt.*, **30**, 2, 249-253.

DE GRAZIO J. W., 1968. New materials for bird control. *Proc. 4th Bird Control Seminar, Bowling Green*, Ohio, sept. 1968, 164-166.

SCHAFER E. W., WEST R. R., CUNNINGHAM D. J., 1969. New starling toxicant : DRC-1347. *Pest Control*, **37**, 9, 22, 24. 30.

UNITED STATES DEPARTMENT OF THE INTERIOR. FISH AND WILDLIFE SERVICE. 1965, *The effects of pesticides on fish and wildlife*, Circular 226, 31-32 ; 1967, *Wildlife research problems programs progress for 1966* : 74-76.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA. *Progress report on starling control for 1964* : 15-25 ; *1965* : 12-47 ; *1966* : 13-38 1967 : 8-37.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1).

CONTENTS

Lucienne BAUD. — A contribution to the physiological study of starvation in an insect. Effects of larval starvation on the nymphs and eggs of the following generation 1

R. BOURNOVILLE. — Ecological observations on the hibernation of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* HARRIS and its parasites in the Versailles area 13

M. CANARD. — Voltinism, diapause and sex-ratio of *Chrysopa perla* in the south West of France 29

E. FYTIZAS. — Influence of a single supply of diet with yeast hydrolysate on the fecundity of *Dacus oleae* GMEL 39

Madeleine BERTRAN PRALAVORIO, P. JOURDHEUIL. — Ecology of the artichoke apion, *Apion carduorum* var. *galactitis* WENCK. on the mediterranean shore 45

H. BLACHÈRE, J. CALVEZ, P. FERRON, G. CORRIEU, P. PERINGER. — Studies on the formulation and conservation of an entomopathogenous preparation of blastospores of *Beauveria tenella* (DELACR. SIESMASZKO) 69

N. BOEMARE. — Action of the densonucleosis virus on the formation of genital organs and the gametogenesis of *Galleria mellonella* L., *Lepidoptera* 81

M. INJAC, J.-L. DUTHOIT, A. AMARGIER. — Histological and cytological study of a nuclear polyhedrosis of the fall webworm (*Hyphantria cunea* DRURY), *Lepidoptera Arctiidae* ... 99

G. N. STAVRAKIS. — Results of dissection of females *D. oleae* 111

J.-P. VINCENT, J.-P. QUÉRÉ. — Destruction trials of the muskrat, *Ondatra zibethica* L. in ponds using poisoning rafts 119

Technical notes :

A. BENOIS. — A method to sort the adults and the brood from the materials of their nests in ant societies 129

G. GROLLEAU, G. PARIS. — Note on the toxicity of 2-chloro-4-toluidine towards the grey partridge (*Perdix perdix* L.) and the red legged partridge (*Alectoris rufa* L.) 139

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7 avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles *séparées* seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; — *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :
a) *résumé* suffisamment précis (250 mots maximun) pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *titre et résumé* en anglais ou destinés à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborateurs, les fonds les dons...; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français mais ils comportent obligatoirement un résumé français *tèrs complet.* Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (Dupont et Duval, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) : le titre du périodique en abrégée selon la *World List of Scientific Periodicals,* ou le *Bulletin Signalétique du C. N. R. S.* ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit *à l'état définitif* soit *à l'état de projets,* exécution leur définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5, *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. Biliotti, Centre national de Recherches agronomiques, 78000 Versailles, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

Le directeur de la publication: M.-L. CAGNAC

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 2-1973

Dépôt légal: 1er trimestre 1973. N° d'impression: 2120.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1973	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 nos par an	160 F	175 F	30 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 nos par an	120 F	135 F	42 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 nos par an	140 F	155 F	50 F
ANNALES DE ZOOLOGIE - ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 nos par an	140 F	155 F	50 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 nos par an	140 F	155 F	50 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 nos par an	120 F	135 F	42 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 4 nos par an	160 F	175 F	55 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 nos par an	120 F	135 F	40 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 nos par an	140 F	155 F	50 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 4 nos par an	140 F	155 F	50 F
ANNALES D'HYDROBIOLOGIE, 2 nos par an	70 F	80 F	50 F
ANNALES D'ÉCONOMIE ET DE SOCIOLOGIE RURALES, 2 nos par an	60 F	66 F	30 F

APIDOLOGIE, 4 nos par an — Abonnement : France : 35 F
Étranger sauf R. F. A. : 40 F
— Le numéro : France : 11 F
Étranger sauf R. F. A. : 12 F

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Recherches acridiennes à Madagascar.
262 p., 1972 ..... 80,00 F

IVe Conférence du groupe international d'étude des virus et des maladies à virus de la vigne, Colmar 16-18 juin 1970.
211 p., 1972 ..... 60,00 F

Lombriciens de France, Écologie et Systématique par M.-B. Bouché.
671 p., 1972 ..... 150.00 F

IIIe Conférence du Groupe Consultatif des Statisticiens forestiers, Jouy en Josas, 7-10 Septembre 1970.
332 p., 1972 ..... 139,75 F

Symposium international sur le soufre en Agriculture. Versailles 3-4 Décembre 1970.
412 p., 1972 ..... 50,00 F

Organisme du sol et production primaire — IVe Colloquium pedobiologiae, Dijon 14-19 Septembre 1971.
588 p., 1972 ..... 65,00 F

La lutte biologique en forêt, Pont-à-Mousson, 12-14 novembre 1969.
212 p., 1971 ..... 45,00 F

VIIIe Symposium européen sur les maladies à virus des arbres fruitiers. Bordeaux, 24-30 Juin 1970.
560 p., 1971 ..... 65,00 F

Essai de programmation de la Recherche (Département agronomie) par D. Macquart, R. Gras, J. Mamy.
70 p., 1971 ..... 30,00 F

IVe Congrès mondial I. A. A. L. D., Paris 20-25 Avril 1970.
342 p., 1971 ..... 53,75 F

Les maladies des plantes maraîchères, par **C.-M. Messiaen et R. Lafon. (2e édition mise à jour).**
441 p., 1971 ..... 64,50 F

Les maladies des plantes - Modes de développement et méthodes de lutte. Traduit de l'anglais par **J. Louvet.**
236 p., 1971 ..... 43,00 F

Techniques d'étude des facteurs physiques de la Biosphère.
544 p., 1970 ..... 86,00 F

Comptes rendus de la 4e Conférence trisannuelle de l'Association européenne pour la Recherche sur la pomme de terre, Brest, 8-13 septembre 1969.
298 p., 1970 ..... 48,37 F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.
Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.
Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.
A Paris, bureau de vente : 11, rue Jean Nicot.

Ann. Zool. - Écol. anim., 1973, **5** (1).

TABLE DES MATIÈRES

Lucienne BAUD. — Contribution à l'étude de la physiologie du jeûne chez un insecte. II. — Effets du jeûne larvaire sur les chrysalides et sur les œufs de la génération suivante 1

R. BOURNOVILLE. — Observations écologiques sur l'hivernation du Puceron du Pois, *Acyrthosiphon pisum* (HARRIS) et de ses parasites dans la région de Versailles 13

M. CANARD. — Voltinisme, diapause et sex-ratio de *Chrysopa perla* (L.) (*Neuroptera, Chrysopidæ*) dans le Sud-Ouest 29

E. FYTIZAS. — Influence d'une seule administration de levure hydrolysée sur la fécondité des femelles de *Dacus oleae* GMEL. (Dipt. *Trypetidæ*) 39

Madeleine BERTRAN PRALAVORIO, P. JOURDHEUIL. — Écologie de l'apion de l'artichaut *Apion carduorum* var. *galactitis* WENCK. sur le littoral méditerranéen 45

H. BLACHÈRE, J. CALVEZ, P. PERRON, G. CORRIEU, P. PERINGER. — Étude de la formulation et de la conservation d'une préparation entomopathogène à base de blastospores de *Beauveria tenella* (DELACR. SIEMASZKO) 69

N. BOEMARE. — Action du virus de la densonucléose sur la formation des organes génitaux et la gamétogenèse du Lépidoptère *Galleria mellonella* L. 81

M. INJAC, J.-L. DUTHOIT, A. AMARGIER. — Étude histo- et cytopathologique d'une polyédrose nucléaire de l'écaille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY) *Lepidoptera, Arctiidæ* 99

G. N. STAVRAKIS. — Observations sur l'état des organes reproducteurs de femelles de *Dacus oleae* (*Diptera, Tripetidæ*) capturées en gobe-mouches pendant une année 111

J.-P. VINCENT. J.-P. QUÉRÉ. — Essai de destruction du rat musqué *Ondatra zibethica* L. en étangs par empoisonnement sur radeaux 119

Notes techniques :

A. BENOIS. — Mise au point d'un appareil de transfert pour séparer les sociétés de Fourmis (Hyménoptères, *Formicidæ*) du substrat de leur nid 129

G. GROLLEAU, G. PARIS. — Note sur la toxicité de la 2-choro-4-toluidine à l'égard de la Perdrix grise (*Perdix perdix* L.) et de la Perdrix rouge (*Alectoris rufa* L.) 139

Contents, see at the end of the issue

Les Annales de Zoologie-Écologie animale figurent dans Current Contents

I. N. 3. 036 025. 5